Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg
Lehrstuhl: Prof. Dr. T. H. Schiebler

DIE SAUREN HYDROLASEN DES NEBENHODENEPITHELS VON RATTEN NACH KASTRATION UND KRYPTORCHISMUS [x]

Inaugural – Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Dieter Weiss
aus Amberg/Opf.

Würzburg, den 10.2.1981

[x] Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 105)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg
Lehrstuhl: Prof. Dr. T. H. Schiebler

DIE SAUREN HYDROLASEN DES NEBENHODENEPITHELS VON RATTEN NACH KASTRATION UND KRYPTORCHISMUS [x]

Inaugural – Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Dieter Weiss
aus Amberg/Opf.

Würzburg, den 10.2.1981

[x] Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 105)

Referent: Prof. Dr. med. R. Gossrau

Korreferent: Prof. Dr. med. T.H. Schiebler

Dekan: Prof. Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 21.5.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität Würzburg

Inhalt Seite

EINLEITUNG 1

MATERIAL UND METHODEN 3

Gewebevorbehandlung 3

Färberische Lichtmikroskopie 4

Enzymnachweise 4

Experimente 6

BEFUNDE 7

Normaltiere 8

Ductuli efferentes 8

Ductus epididymidis 9

Experimente 18

Bilaterale operative Kastration 18

Morphologie 18

Enzymhistochemie 23

Unilaterale operative Kastration 28

Morphologie 28

Enzymhistochemie 30

Chemische Kastration 33

Morphologie 33

Enzymhistochemie 35

Bilaterale operative Kastration mit sofortiger Testosteronsubstitution 37

Morphologie 37

Enzymhistochemie 38

Seite

Bilaterale operative Kastration mit verzögerter Testosteronsubstitution 39

Morphologie 39

Enzymhistochemie 40

Kryptorchismus 40

Morphologie 40

Enzymhistochemie 43

DISKUSSION 46

Gewebevorbehandlungs- und Nachweismethoden 47

Zonengliederung, Zelltypen, Lokalisation und Funktion der sauren Hydrolasen im Nebenhoden 51

Reaktion auf Kastration, Substitution und Kryptorchismus und Regulation des Nebenhodens und seiner sauren Hydrolasen 58

ZUSAMMENFASSUNG 71

LITERATUR 75

ABBILDUNGEN, TABELLEN 91

EINLEITUNG

Auch bei Ratten gelangen zunächst unfruchtbare Spermien aus dem Hoden in den Nebenhoden und wandern innerhalb von 5-10 Tagen den 4 m langen, stark aufgeknäuelten Ductus epididymidis hinunter. Während dieser Zeit bzw. der Passage durch den Nebenhodengang reifen die Spermien durch mannigfaltige, im einzelnen aber noch weitgehend ungeklärte Interaktionen zwischen Sperma und Gangepithel aus und sind am Ende des Ductus epididymidis befruchtungsfähig (Tagliani und Pinca, 1955; Martan, 1969; Hamilton, 1975).

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen (Reid und Cleland, 1957; Holstein, 1969, Brandes, 1974; Hamilton, 1975; Gossrau, 1977 a, 1979 a,b; Zunke und Gossrau, 1980 a,b,c) haben gezeigt, daß der Nebenhodengang von Ratten zonal gegliedert ist; es lassen sich 9-10 Zonen unterscheiden, die hauptsächlich durch regional differente Ausrüstung des Ductus epididymidis mit verschiedenen Typen von Epithelzellen zustandekommen. Nach histochemischen Befunden (Gossrau, 1978) tritt diesen morphologischen Unterschieden ein zonenspezifisches Muster der Microvilli(Stereocilien)hydrolasen zur Seite. Für die Lysosomenhydrolasen des Nebenhodenepithels existieren hierüber nur Hinweise (Martan und Risley, 1963; Vogel, 1967; Moniem und Glover, 1972; Vogel und Goslar, 1972; Gossrau, 1977 a,b, 1979 a,b; Zunke und Gossrau, 1980 a).Um Auskunft über die lysosomalen Stoffwechselvorgänge in den Epithelzellen des Nebenhodens zu bekommen, ist eine systematische histochemische Untersuchung der Hydrolasen des epithelialen Lysosomensystems

in allen Zonen und Zelltypen des Ductus epididymidis nötig. Bekannt ist bereits, daß der Nebenhoden von Ratten über extrem aktive saure Hydrolasen verfügt (Dott, 1969,Lit.; Brandes 1974, Lit.; Hamilton, 1975, Lit.; Gossrau, 1977 b).

Für die ungestörte Funktion des Nebenhodens ist der Hoden mit seinen Androgenen wichtig. Z.B. führt Kastration bei Ratten zur Aktivitätsabnahme der lysosomalen Hydrolasen (Dott, 1969, Lit.; Brandes, 1974 Lit.), und Kryptorchismus verändert das "Vakuolensystem" in den hellen Zellen des Nebenhodenschwanzes (Glover et al., 1975). Offen ist weitgehend, wie sich beide Eingriffe an sich und in Abhängigkeit von der Zeit nach dem Experiment in den einzelnen Zonen und Zellarten des Ductus epididymidis bemerkbar machen. Ursachen dafür sind u.a., daß bisher meist ohne Berücksichtigung der Zonengliederung und relativ spät nach dem Eingriff untersucht wurde (Cavazos, 1958, 1975, Lit.; Dyson und Orgebin-Crist, 1973; Moore und Bedford, 1979 a,b), oder die vorliegenden Befunde größtenteils auf biochemischen Untersuchungen basieren (Conchie und Hay, 1957; Conchie und Findlay, 1959; Conchie et al., 1959; Mann, 1964, Lit.; Dott, 1969, Lit.; Paris und Brandes, 1974; Morton 1976, Lit.), die aus methodischen Gründen den heterogenen Bau des Nebenhodenganges nicht berücksichtigen können.

Deshalb haben wir bei Ratten mit histochemischen Methoden zunächst die Lysosomenhydrolasen in allen Zelltypen und Zonen sowie die sauren Hydrolasen im Lumen des nor-

malen Nebenhodenganges und dann das epitheliale und luminale Hydrolasensystem nach experimentellen Eingriffen ins Endokrinium untersucht. Als Experimente dienten Kastration und Kryptorchismus, weil sie beide einerseits in den Androgenhaushalt eingreifen und die Auswirkungen biochemisch relativ gründlich bearbeitet wurden, andererseits aber deutliche Unterschiede in der Reaktion auf den Eingriff bestehen (Maneely, 1958; Martan, 1969, Lit.; Brandes, 1974, Lit.; Hamilton, 1975, Lit.; Moore und Bedford, 1979 a,b; Weiss und Gossrau 1980).

MATERIAL UND METHODEN

Untersucht wurden 159 5-9 mon alte männliche Wistar-Ratten eigener Zucht; Haltung bei künstlichem 12-stündigen Licht-Dunkel-Wechsel und einer Stalltemperatur von 22^{+} 2^{o}C in Macrolon®-Käfigen mit Hobelspäneeinstreu und Altromin®-Haltungsfutter sowie Leitungswasser ad libitum. Tötung zwischen 8.00 und 10.00 Uhr durch Dekapitation in Äthernarkose.

G e w e b e v o r b e h a n d l u n g (Lojda et al., 1976 a, 1979). Innerhalb von 1 min Entnahme von Nebenhoden und Hoden und Immersionsfixation bei 4^{o}C von je einem Nebenhoden und Hoden in 2,5% Glutaraldehyd (0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,4) oder 4% Formaldehyd mit 1% $CaCl_2$ (pH 7,4, Einstellung mit NaOH) gefolgt von Spülen im Holt'

schen Gemisch bei 4°C für jeweils 24 h. Anschließend wurden der glutaraldehyd- und formaldehydfixierte Nebenhoden mit oder ohne Hodenanteile auf einem Kryostattisch aufgeblockt, mit Klarsichtfolie umwickelt und in N_2-gekühltem Propan eingefroren, oder Einfrieren unfixierter Nebenhoden und Hoden; von den aldehydfixierten Blöcken wurden Kryostatschnitte (10 µm; System Dittes-Duspiva, Modell 808 T) hergestellt, auf zimmerwarme, albuminisierte und abgeflammte Objektträger montiert und 0,5-1 h luftgetrocknet; die Schnitte (Herstellung s.o.) von den unfixierten Blöcken wurden größtenteils auf unbehandelte Objektträger oder semipermeable Membranen (Visking-Dialyseschläuche, Typ 32/36, Serva; nach Einfüllen der Gelmedien in die Membrangefäße und gelifizieren der Medien) montiert und 5-10 min luftgetrocknet, seltener mit einer Leybold-Heraeus (GT 001)- oder Edwards (EPD 1)-Anlage gefriergetrocknet und mit 0,5% Celloidinlösung auf albuminisierte Objektträger montiert.

F ä r b e r i s c h e L i c h t m i k r o s k o p i e

Methylenblau nach Spannhof (1967) und Hämalaun-Eosin nach Romeis (1968; § 703).

E n z y m n a c h w e i s e (soweit nicht besonders angegeben nach Lojda et al., 1976 a, 1979).

Saure Phosphatase (sP) mit Naphthol-AS-TR-Phosphat nach Lojda (Azokupplung), unspezifische Esterasen (uE) modifiziert

nach Davis und Ornstein (Azokupplung), saure ß-D-Galactosidase (sß-Gal; Azokupplungsreaktion) nach Gossrau und mit dem Indigogenverfahren nach Lojda, ß-D-N-Acetylglucosaminidase (NAG) modifiziert nach Hayashi et al., α-D-Mannosidase (α-Man) nach Gossrau und α-D-Galactosidase (α-Gal) nach Gossrau. Zusätzlich wurden beim Normaltier nachgewiesen: sP mit Cytidinmonophosphat als Substrat modifiziert nach Gomori (Metallsalzmethode), Dipeptidylpeptidase I und II (DPP I und II) nach Gossrau und Lojda (1980 a,b) mit Gly-Arg-4-methoxy-2-naphthylamid bzw. Lys-Pro-4-methoxy-2-naphthylamid als Substrat und Fast Garnet GBC rein bzw. Fast Blue B rein zur Simultankupplung, außerdem die sP, sß-Gal und NAG mit Azoindoxylverfahren nach Gossrau sowie die uE mit dem gleichen Reaktionsprinzip und 5-Br-3-Indoxylacetat als Substrat modifiziert nach Delellis und Fishman; als Simultankuppler dienten bei den Azoindoxylmethoden Fast Blue B oder hexazotiertes Neufuchsin. Außer an Schnitten von fixiertem Material mit wäßrigen Inkubationsmedien wurden die unspezifischen Esterasen, Phosphatasen, Glycosidasen und Peptidasen an frischen Schnitten mit den jeweiligen Membranmethoden für die Azokupplungs-,Azoindoxyl- und Indigogenverfahren (Lojda et al., 1976 a, 1979) nachgewiesen.

Inkubation bei 37° C in wasserdampfgesättigten Plexiglaskammern; Inkubationszeiten (wäßrige Medien): uE (Azokupplung) 10 min, sP (Azokupplung), sß-Gal (Indigogenmethode), NAG (Azokupplung) und α-Man 30 min, sß-Gal (Azokupplung), ß-Gluc, α-Gal und uE, sP, sß-Gal, NAG (Azoindoxylverfahren), sP (Metallsalzmethode) sowie DPP I

und II 60 min; nach der Inkubation abgießen der Medien, Einstellen der Schnitte in Aqua dest., 15 min Spülen in Leitungswasser, erneut Einbringen in Aqua dest., ca 12 h Postfixation in 4% Formaldehyd mit 1% $CaCl_2$ bei Zimmertemperatur, 10 min fließend wässern, Spülen in Aqua dest. und Eindecken in Glycerin-Gelatine. Bei Verwendung der Membrantechnik wurde in der Regel über Nacht im Kühlschrank bei 4° inkubiert, anschließend die Membran mit den darauf montierten Schnitten abgeschnitten, in A. dest. gespült und dann wie oben angegeben weiterbehandelt.

E x p e r i m e n t e

Kastration. Hierzu wurde der Leistenkanal oberhalb des Scrotum durch je einen Schnitt eröffnet, Hoden und Nebenhoden mit Fettgewebe hervorgezogen, die A. testicularis und Ductuli efferentes unterbunden und der Hoden abgesetzt. Die Unterbindung der A. testicularis erfolgte in unmittelbarer Hodennähe, um die Blutversorgung (Greene, 1935) des Nebenhodenkopfes nicht zu gefährden. Nach der Reposition der Nebenhoden wurde der Leistenkanal durch 2 Muskel- und 4 Hautnähte geschlossen. Nach bilateraler Kastration wurde (in Klammern ist die Anzahl der jeweils verwendeten Tiere angegeben) nach 0,5 (3), 1 (3), 1,5 (3), 2 (3), 3 (3), 5 (3), 7 (4), 10 (3), 14 (2), 15 (3), 20 (3), 22 (3), 66 (3) Tagen sowie 4 (3), 9 (3) und 12,5 (3) mon, nach unilateraler Kastration 5 (3), 7 (3), 12 (3), 15 (3) Tage sowie 4 (2) und 9 (3) mon nach dem Eingriff untersucht. Zur chemischen Kastration (vgl. Flickinger und Loving, 1976)

wurden 10 mg/200 g Körpergewicht (KG) Cyproteronacetat (Schering; gelöst in 0,2 ml Sesamöl) über 7 (3), 21 (3), 40 (3) und 84 (3) Tage unter die Rückenhaut injiziert. Als Kontrolle dienten Ratten, die über 40 (3) oder 84 (3) Tage nur Sesamöl erhielten.

Bilaterale Kastration mit anschließender Testosteronsubstitution (vgl. Cavazos, 1958). Hierzu wurden 8 Ratten kastriert und 3 Tieren sofort nach dem Eingriff, 3 weiteren erst 20 Tage später (verzögerte Substitution) über 20 Tage 0,2 mg/300 g KG Testosteron-Propionat (Schering; gelöst in 0,5 ml Erdnußöl) subcutan injiziert. 2 Tiere erhielten zur Kontrolle 20 Tage lang nur Erdnußöl.

Kryptorchismus. Hierzu wurde beidseits der Leistenkanal oberhalb des Scrotum eröffnet, Hoden und Nebenhoden von der Umgebung unter Schonung der Blutversorgung und des Ductus deferens abgetrennt, in die Bauchhöhle verlagert und der Leistenkanal mit Doppelnähten verschlossen. Untersucht wurde 2 (3), 5 (3), 7 (3), 15 (3), 22 (3), 30 (3) und 40 (3) Tage sowie 4 (3) und 8,5 (3) mon nach dem Eingriff.

BEFUNDE

Bei der Benennung der verschiedenen Abschnitte und Zellarten des Nebenhodenganges folgen wir weitgehend der von

Zunke und Gossrau (1980 b,c) beschriebenen Zonengliederung (vgl. Reid und Cleland, 1957; Hamilton, 1975, Lit.)

N o r m a l t i e r e

D u c t u l i e f f e r e n t e s Im apikalen Cytoplasma der Hauptzellen (Hz) reagiert die uE kräftig, die NAG und ß-Gluc schwach; die anderen Hydrolasen produzieren kein sichtbares Reaktionsprodukt. Der uE-Nachweis fällt granulär, der der beiden Glycosidasen diffus aus. Supranukleär kommen alle Hydrolasen vor. Am stärksten reagieren die uE, DPP II und NAG, gefolgt von der sP, α-Gal und sß-Gal (Indigogenmethode); am geringsten sind die Farbstoffmengen beim Nachweis der DPP I, sß-Gal (Azokupplung), ß-Gluc und α-Man. Das Reaktionsprodukt kommt meistens in Granula vor. Infranukleär reagiert lediglich die uE positiv. In den Flaschenzellen (Fz) läßt sich eindeutig nur die uE bei Untersuchung mit dem Azoindoxylverfahren nachweisen; der Farbstoff tritt bevorzugt im apikalen und supranukleären Cytoplasma auf. Für die anderen Hydrolasen sind keine sicheren Angaben möglich, da die Fz zwischen den ebenfalls hochaktiven Hz nicht eindeutig identifiziert werden können. - In den Basalzellen (Bz) sind keine Hydrolasen faßbar.

D u c t u s e p i d i d y m i d i s (Tab. 1,2, Abb.1-12;13-24)
Zone 1. In den Hz reagieren die DPP I, ß-Gluc, NAG und sß-Gal (Indigogenverfahren) ausschließlich supranukleär; die ß-Gluc produziert mehr Farbstoff als in den Ductuli efferentes. Am aktivsten ist die DPP II, die mit hohen Umsätzen apikal und supranukleär zu finden ist. (In der Microvillizone sieht man die Mitreaktion der DPP IV, die bis zur Zone 4 anhält, an Intensität aber abnimmt.) Die sP ist lediglich mit dem Azoindoxylverfahren faßbar; das Enzym tritt in der Microvillizone und supranukleär auf. Ubiquitär ist die uE anzutreffen; das meiste Reaktionsprodukt entsteht supranukleär. Die Untersuchung der sß-Gal (Azokupplung), sP (Azokupplung) sowie der α-Gal und α-Man fällt negativ aus. - Die Fz enthalten im apikalen Cytoplasma hohe Aktivitäten an uE, sß-Gal (Indigogenverfahren), NAG, ß-Gluc, DPP II und sP (Azoindoxylmethode); wenig Farbstoff entsteht beim Nachweis der sP (Azokupplung, Metallsalzverfahren), sß-Gal (Azokupplung) sowie der DPP I, α-Man und α-Gal. - Die Bz verfügen nur beim Nachweis der uE mit 1-Naphthylacetat (Azokupplung) über Reaktionsprodukt, das überall in großer Menge im Cytoplasma vorkommt. Mit der Azoindoxylmethode ist das Enzym nicht eindeutig faßbar; gleiches gilt für die anderen Hydrolasen.

Speziell beim uE-Nachweis mit der Azokupplungsreaktion beobachtet man in manchen Abschnitten der Zone 1 neben überall dunkelbraun gefärbten, hellbraun tingierte einzelne oder Gruppen von Hz. Hierdurch resultiert ein Streifenmuster; es können schwach oder stark reagierende Hz über-

wiegen. An solchen Stellen ist der Farbstoff diffus im Cytoplasma verteilt; zusätzlich finden sich vor allem in den stark reagierenden Hz apikal und supranukleär feine, intensiv dunkelbraun gefärbte Granula. Bei Darstellung der uE mit dem Azoindoxylverfahren sind die Intensitätsunterschiede geringer; das Streifenmuster ist schwächer ausgeprägt oder fehlt. Die restlichen Hydrolasen sind auf das supranukleäre Cytoplasma beschränkt; die ß-Gluc und NAG (Azokupplung)sind weniger aktiv als in den uniform reagierenden Anteilen der Zone 1; nur vereinzelt treten stark gefärbte Granula auf. Relativ kräftig reagiert die NAG, wenn die Azoindoxylreaktion angewendet wird. Die anderen Enzyme sind aktiver als in den gleichmäßig reagierenden Anteilen dieser Zone; negativ fällt der sß-Gal-Nachweis mit dem Azoindoxylverfahren aus. Die sP (Azoindoxylmethode) tritt in den Microvilli auf; supranukleär enthält die lumennahe Hälfte des Cytoplasmas der Hz verglichen mit der basalen wenig Farbstoff.

Zone 2. Die Hz zeichnen sich bei allen Hydrolasennachweisen durch eine gegenüber der Zone 1 intensiver gefärbte supranukleäre Reaktionszone aus. Beim Nachweis der uE, NAG und sß-Gal mit Azoindoxylverfahren läßt sich dieser Bereich in 2 Regionen untergliedern; die kernnahe reagiert kräftig, die kernferne schwach. Eine Ausnahme macht der Nachweis der sP mit der Azoindoxylmethode und der DPP II; dann besitzen die Abschnitte, die bei den anderen Hydrolasen nur supranukleär stark reagieren, zusätzlich apikal mittlere Mengen Farbstoff, und die bei

den übrigen Hydrolasen supranukleär schwach tingierten Stellen enthalten viel Reaktionsprodukt. - Die Fz reagieren beim Nachweis der uE (Azoindoxylverfahren), DPP II, sß-Gal, NAG und ß-Gluc stark, bei dem der DPP I und α-Man schwach. Der Azo- bzw. Azoindoxylfarbstoff ist im apikalen Cytoplasma untergebracht. - Die Bz lassen sich nur vereinzelt und ausschließlich durch den Nachweis mit dem Azokupplungsverfahren darstellen.

Zone 3. Verglichen mit der Zone 2 fehlt in den Hz größtenteils die bevorzugt supranukleär reagierende Region. Deutlich ist dies bei der Untersuchung der uE nach Glutaraldehydfixation und mit der Azokupplungsmethode, fixationunabhängig mit dem Azoindoxylverfahren, bei den anderen Hydrolasen weniger klar zu erkennen. Apikal und supranukleär kommen beim Nachweis der uE etwa gleich viel und intensiv gefärbte Granula, bei dem der DPP II, sß-Gal, sP, NAG, α-Man und α-Gal diffus verteilter Farbstoff in kleinen Mengen vor. - Die Bz sind nur beim Nachweis der uE mit der Azokupplungsmethode, nicht dagegen mit dem Azoindoxylverfahren darstellbar. Etwa die Hälfte der Bz reagiert positiv. - Fz fehlen. - Intraepitheliale Lymphozyten (iL) enthalten uE-, ß-Gluc-, DPP I-, DPP II-, NAG (Azoindoxylmethode)-positive Granula.

Zone 4. In den Hz reagiert die uE bei Verwendung der Azokupplungsreaktion meistens ubiquitär diffus und mittelkräftig, mit der Azoindoxylmethode schwach; methodenunabhängig liegen supranukleär einige intensiv gefärbte Granula. Die anderen Hydrolasen kommen nur supranukleär

vor; die sP, DPP II und NAG (Azokupplung) produzieren mittlere, die sß-Gal (Indigogenmethode) geringere Farbstoffquantitäten. Die DPP I, sß-Gal (Azokupplung, Azoindoxylverfahren), NAG (Azoindoxylmethode), ß-Gluc, α-Man und α-Gal sind kaum faßbar; das Reaktionsprodukt ist in der Regel diffus verteilt. - Die Bz verhalten sich wie in Zone 3. - Vereinzelt treten helle Zellen (hZ) vom Typ I und II auf, die kleiner als die in Zone 5 sind. Die Hydrolasen sind oberhalb der Kerne untergebracht. Die DPP II, uE, sß-Gal (Indigogen-, Azoindoxylverfahren), NAG und ß-Gluc sind hoch, die sß-Gal (Azokupplungsreaktion) und α-Man weniger aktiv, die DPP I, sP und α-Gal kaum oder nicht nachweisbar. - IL kommen überall intraepithelial vor und sind am besten mit dem Nachweis der ß-Gluc, DPP I und uE faßbar; der Farbstoff ist in Granula lokalisiert, die den Kern ringförmig umgeben. Außerdem sind in diesen Zellen die DPP II, sß-Gal (Indigogen-, Azoindoxylverfahren) und NAG schwach aktiv; die anderen Hydrolasen fehlen.

Zone 5. Die Hz entsprechen denen in Zone 4. Mit Ausnahme der uE sieht man bei sämtlichen Hydrolasennachweisen supranukleär wenige stark reagierende Granula. Die uE reagiert mit 1-Naphthylacetat (Azokupplung) als Substrat stark, mit 5-Br-3-Indoxylacetat (Azoindoxyltechnik) schwach, die NAG (Azokupplung), DPP II und sP mittelstark, die sß-Gal und α-Gal schwach, die NAG (Azoindoxylverfahren) und α-Man kaum. - Bei Untersuchung der uE (Azokupplung)enthalten fast alle Bz Azofarbstoff; die Lumenquerschnitte

sind stellenweise ringförmig von uE-positiven Bz umgeben. Die anderen Enzyme reagieren in den Bz nicht. - Die hZ vom Typ I und II sind verglichen mit der Zone 4 zahlreicher und größer; die Enzyme treten bevorzugt apikal und supranukleär auf; bei den meisten Nachweisen ist das Cytoplasma überwiegend mit Granula vollgestopft. Kräftig reagieren die uE, DPP II, sß-Gal (Azoindoxylverfahren), NAG und ß-Gluc, weniger intensiv die sß-Gal (Azokupplungs-, Indigogenverfahren) und α-Gal. Die DPP I und α-Man fehlen. Wird die sP mit dem Gomori-Verfahren dargestellt, entstehen große Mengen Bleisulfid. - IL kommen in geringerer Zahl als in Zone 4 vor; am besten sind sie durch den Nachweis der DPP I, ß-Gluc und uE darstellbar, die an Granula gebunden den Kern umgeben; der Nachweis der sß-Gal (Indigogen-, Azoindoxylverfahren) und der NAG fällt ebenfalls kräftig aus; doch heben sich die iL wegen der starken Hz-Reaktion weniger deutlich als beim DPP I-, uE- und ß-Gluc-Nachweis von der Umgebung ab. Im Lumen reagieren erstmals die sß-Gal, NAG und α-Man; der Farbstoff kommt an Spermien gebunden und im Spermplasma vor. Über mittlere Aktivitäten verfügen die sß-Gal (Indigogenverfahren) und die NAG (Azokupplung), über schwache die sß-Gal (Azokupplung, Azoindoxylverfahren) und α-Man. Inkubation von Schnitten von fixiertem Material mit wäßrigen Medien und von frischen Schnitten mit der Membrantechnik liefert intraluminal prinzipiell gleiche Resultate; allerdings fällt der Nachweis mit der Membranmethode kräftiger aus.

Zone 6. Die Hydrolasen der Hz verhalten sich weitgehend wie in Zone 4 und 5. Zusätzlich findet man beim Nachweis der uE, DPP II und NAG supranukleär einzelne kleine, stark reagierende Granula und basal (Ausnahmen: sß-Gal, α-Man, α-Gal) diffus verteilten Farbstoff. - 1-Naphthylacetat (Azokupplung) wird von der uE in allen Bz umgesetzt. - Die hZ vom Typ II sind kleiner und seltener als in Zone 5. In den iL gleicht das Reaktionsergebnis dem in Zone 5 . - Im Lumen reagieren die sß-Gal (Indigogenverfahren) und NAG (Azokupplung) stärker als in Zone 5; bei Untersuchung der sß-Gal und NAG mit den Azoindoxylverfahren finden sich kaum Differenzen.

Zone 7. Im Gegensatz zu morphologischen Befunden (Zunke und Gossrau, 1980 b,c) kann diese Zone enzymhistochemisch in 2 Subzonen untergliedert werden.

In den Hz des proximalen Abschnitts erscheint das Reaktionsprodukt beim Nachweis der sP (Glutar- und Formaldehydfixation, Azokupplung; Formaldehydfixation, Azoindoxylverfahren) überwiegend diffus, bei dem der übrigen Hydrolasen fixationsunabhängig fein- bis grobgranulär. Am stärksten fällt der sP-Nachweis speziell nach Fixation in Formaldehyd aus, schwächer die NAG (Azokupplung), DPP II- und α-Man-Reaktion, gefolgt vom NAG- (Azoindoxylverfahren) und ß-Gluc-Nachweis. Die mit der Azoindoxylmethode untersuchte uE und sß-Gal sind vorwiegend an einige stark reagierende und perinukleär gelegene Granula gebunden; das restliche perinukleäre Cytoplasma enthält wenig Farbstoff. Am schwächsten reagieren die DPP I, sß-

Gal (Indigogen-, Azokupplungsmethode) und α-Gal. - Die Bz zeigen keine Besonderheiten. - Die hZ vom Typ III zeichnen sich durch lumennahe gelegene Kerne und das überall mit Farbstoff vollgestopfte Cytoplasma aus. Die uE, DPP II, sß-Gal, NAG, α-Gal und ß-Gluc kommen immer, die α-Man nur in wenigen Zellen, die sP (Azokupplung, Azoindoxylmethode) und DPP I nicht vor. Mit dem Metallsalzverfahren fällt der sP-Nachweis in den hZ kräftig aus. - Die iL lassen sich am besten durch die uE (Azoindoxylverfahren) und DPP I identifizieren; der ß-Gluc-, DPP II- und NAG-Nachweis ist dazu wegen der ebenfalls granulären Hz-Reaktion weniger gut geeignet. - Im Lumen hat die Aktivität der α-Man, NAG und sß-Gal zugenommen; die Reaktion fällt nach Fixation in Glutaraldehyd kräftiger aus als nach Formaldehydfixation; die Farbstoffmenge ist im distalen Abschnitt dieser Subzone am größten. Hohe Farbstoffquantitäten produzieren die sß-Gal und NAG (Azokupplung), mittlere die NAG bei Verwendung der Azoindoxylmethode und die α-Man.

In der distalen Subzone reagieren die sP, DPP II, NAG und ß-Gluc in fast allen Anteilen der Hz ebenso intensiv wie proximal; das infranukleäre Cytoplasma ist jedoch nahezu frei von Farbstoff. Die Aktivität der sß-Gal und uE hat gegenüber proximal zu-, die der α-Man abgenommen; bei der sß-Gal und uE hängt die Lokalisation in höherem Maße als bei den anderen Zonen von der eingesetzten Methode ab. Bei Untersuchung der sß-Gal mit der Azokupplungstechnik ist das Reaktionsprodukt apikal und supranukleär diffus verteilt; mit dem Indigogen- und Azoin-

doxylverfahren kommen supranukleär fast ausschließlich Granula vor. Das apikale Cytoplasma enthält bei Verwendung dieser beiden Methoden kaum oder keinen Farbstoff. Der uE-Nachweis (Azokupplung) fällt überall im Cytoplasma kräftig dunkelbraun und diffus aus; mit dem Azoindoxylverfahren findet man supranukleär zahlreiche kleine oder große stark reagierende Granula; das restliche Cytoplasma enthält amorphen Azoindoxylfarbstoff. - Wegen der intensiven Hz-Reaktion lassen sich die Bz beim Nachweis der uE (Azokupplung)nicht klar ausmachen. - Die Zahl der hZ ist angestiegen; Form der Zellen und Hydrolasenaktivität entsprechen denen im proximalen Abschnitt. - Positiv reagierende iL fehlen. - Die Lumenenzyme sß-Gal, NAG und α-Man verhalten sich wie im proximalen Abschnitt der Zone 7.

Zone 8. Die Hz verfügen über deutlich weniger Farbstoff als im distalen Anteil der Zone 7. Mit Ausnahme der uE, die überall im Cytoplasma anzutreffen ist, beschränkt sich das Reaktionsprodukt bei den anderen Hydrolasen überwiegend auf das supranukleäre Cytoplasma. Auch die Farbstoffmenge ist beim uE-Nachweis am größten; mit 1-Naphthylacetat als Substrat (Azokupplung) ist das Cytoplasma überall mit amorphem Azofarbstoff ausgefüllt; mit der Azoindoxylmethode ist die Farbstoffmenge kleiner, und es sind supranukleär zahlreiche stark reagierende Granula zu sehen. Beim Nachweis der DPP II, sP, α-Man und NAG (Azokupplung)fällt die Reaktion mittelstark, diffus und granulär, die der sß-Gal, NAG (Azoindoxylmethode), DPP I

und der α-Gal ebenfalls schwach, aber diffus aus. Bei Untersuchung der sP mit dem Azoindoxylverfahren reagieren zusätzlich die Microvilli der Hz kräftig. - Die Bz und hZ vom Typ IV gleichen denen in der vorhergehenden Zone; in den hZ sind alle Enzyme mit Ausnahme der sP und α-Man extrem aktiv; das Reaktionsprodukt erscheint größtenteils granulär. Die sP ist nicht faßbar; die α-Man ist nur etwa in der Hälfte der hZ vorhanden. - Hydrolasenpositive iL fehlen. - Die Lumenenzyme sß-Gal, NAG und α-Man reagieren schwächer als in Zone 7.

Zone 9. Die Aktivität der meisten sauren Hydrolasen ist in den Hz geringer als in Zone 8. Lediglich die uE (Azokupplung) reagiert unverändert stark. Die DPP II, sP, sß-Gal, NAG (Azoindoxylverfahren), ß-Gluc, α-Man und α-Gal sind schwach aktiv. Beim NAG-Nachweis mit der Azoindoxylmethode kommt granuläres, mit dem Azokupplungsverfahren und bei dem der uE mit der Azoindoxyltechnik und DPP II granuläres und diffuses, bei dem der anderen Enzyme nur diffuses Reaktionsprodukt vor. Beim sP-Nachweis (Azoindoxylmethode) reagieren die Mikrovilli. - Die Größe der hZ vom Typ IV ist zurückgegangen; sonst verhalten sie sich unverändert. - IL sind nicht faßbar. - Die Lumenhydrolasen haben an Aktivität verloren. Die sß-Gal reagiert mittelkräftig (Indigogen-, Azoindoxylverfahren) oder schwach (Azokupplung), die NAG und α-Man nur schwach.

Zone 10. (Übergang des Ductus epididymidis in den Ductus deferens). Hier findet man vor allem nach Fixation mit

Glutaraldehyd und weniger ausgeprägt nach Formaldehydfixation Hz, die länger als in der vorhergehenden Zone sind und häufig über apikale Protrusionen verfügen. Bei allen Hydrolasennachweisen konzentriert sich das Reaktionsprodukt auf das apikale und supranukleäre Cytoplasma. In den Protrusionen kommen vor allem die uE, seltener die ß-Gluc, DPP II, NAG und sß-Gal vor. Die Hydrolasenaktivitäten entsprechen denen in den Hz der Zone 9 oder sind höher. - Bz sind nicht zu erkennen. - die hZ vom Typ IV sind extrem lang und ragen gelegentlich weiter als die Protrusionen der Hz ins Lumen hinein. Die Aktivitäten der hZ-Hydrolasen verhalten sich wie die in Zone 9. Gleiches gilt für die Umsätze der Lumenhydrolasen.

Experimente

Bilaterale operative Kastration

Morphologie

Zone 1. Nach 0,5 Tagen besitzen die Hz speziell nach Glutaraldehydfixation Protrusionen. Intraepithelial sieht man überall einige Vakuolen und runde Zellen (rZ); ihr Cytoplasma färbt sich mit Methylenblau diffus an. Sie besitzen etwa 2-4fachen Erythrozytendurchmesser. Nach Fixation mit Glutaraldehyd sind die rZ von einem schmalen, nach Formaldehydfixation von einem breiten Saum umgeben. Im Lumen hat die Zahl der Spermien abgenommen; außerdem kommen einige rZ und Vakuolen vor. 1 Tag nach dem Eingriff ist die Zahl der rZ und Vakuolen größer als die der Hz, und der Epithelverband erscheint aufgelockert bis de-

struiert. Nach 1,5 Tagen hat sich die Epithelhöhe fast verdoppelt; das Lumen ist weitgehend frei von Spermien. Nach 3 Tagen erscheint das Epithel wieder geschlossen; die Zahl der intraepithelialen rZ und Vakuolen ist zurückgegangen. Neu treten basal im Epithel Zellen (neue basale Zellen, nbz) auf, die größer als die Bz sind. Die nbz besitzen einen kleinen basophilen Kern und ein wabiges Cytoplasma, die Bz nicht. Die Ganglichtung ist kleiner geworden und frei von Zellen. Nach 15 Tagen fehlen Protrusionen nahezu vollständig; das Cytoplasma der Hz ist stärker granuliert als beim Normaltier. Nach 20 Tagen ist das Epithel flacher geworden.

Zone 2. Die ersten Veränderungen sind nach 1 Tag zu erkennen; der Lumendurchmesser hat abgenommen; das Lumen selbst enthält einzelne rZ, Vakuolen und Spermien. Unregelmäßige Epithelverdickungen beobachtet man nach 1,5 Tagen; zusätzlich treten nach Fixation mit Glutaraldehyd Protrusionen und basal im Epithel rZ auf. Das Lumen ist noch kleiner geworden; rZ im Ganglumen enthalten meist Granula verschiedener Größe und Basophilie. Der Durchmesser der rZ schwankt auffällig. Nach 3 Tagen hat sich die Ganglichtung weiter verkleinert und ist praktisch zellfrei; die Lumenquerschnitte sind unregelmäßig geformt. Nach 5 Tagen hat die Zahl der intraepithelialen rZ abgenommen, und basal treten nbz auf. Nach 15 Tagen sind weniger nbz als vorher zu sehen. Abflachungen des Epithels existieren nach 20 Tagen.

Zone 3,4. Nach 1,5 Tagen und im Anschluß an Glutaraldehydfixation haben die Hz einige kleine Protrusionen. Das Lumen beginnt sich zu leeren; wenige Spermien wechseln mit rZ unterschiedlicher Größe ab, die Granula differenter Basophilie besitzen. Nach 3 Tagen haben Zahl und Größe der Protrusionen zugenommen; das Epithel ist stellenweise tief eingebuchtet, manchmal stark verdickt und kann das 1,5-3fache der Normalhöhe erreichen. Die Kerne der Hz liegen verschieden hoch im Cytoplasma und sind schmäler und länger geworden. Basal der Kernzone liegen intraepithelial rZ. Die Ganglichtung ist durch die Epithelverdickungen unterschiedlich stark verkleinert und gezackt bis spaltförmig. 5 Tage nach Kastration ist das Epithel dicker geworden; die Zahl der rZ und der Ganglumendurchmesser haben abgenommen. Nach 7 Tagen erscheint das Cytoplasma der Hz inhomogener als beim Normaltier und enthält verschieden große basophile Granula. Zusätzlich finden sich nbz in intraepithelialen Löchern. Andere Löcher enthalten vor allem nach Glutaraldehydfixation etwa erythrozytengroße Granula. Die intraepithelialen Löcher können ebenso zahlreich wie die Hz sein. Das Ganglumen ist leer.

Alle Veränderungen bestehen bis zum 20. Tag nach der Kastration, sind dann aber weniger ausgeprägt. Nach 2,4,9 und 12 mon sind Epithelhöhe und Zahl der Löcher mit nbz zurückgegangen. Die Kerne der Hz bilden mehrere Reihen. Morphologische Unterschiede zwischen den einzelnen Zonen sind kaum noch zu erkennen.

Zone 5,6. Erste Reaktionen sieht man nach 3 Tagen; die Veränderungen entsprechen praktisch denen in Zone 3 und 4. Das Lumen ist stellenweise deutlich verkleinert und enthält einige rZ und wenige Spermien. Nach 5 Tagen sind die Protrusionen zahlreicher geworden, das Epithel dicker und inhomogen; es ist unterschiedlich basophil und von rZ sowie nbz durchsetzt. Der Lumendurchmesser ist überall zurückgegangen; im Lumen kommen einige Vakuolen, rZ und Spermienbruchstücke vor. Am 7. Tag und bis zum 12. mon nehmen Zahl und Größe der intraepithelialen Löcher ab. Die Epithelhöhe verringert sich; die Kerne bilden nach 12 mon mehrere Reihen.

Zone 7. Nach 3 Tagen wird das Epithel proximal stellenweise etwas dicker. Im Ganglumen erscheinen einige rZ; die Zahl der Spermien ist vermindert. Am 5. Tag treten Protrusionen auf; die partielle Epithelverdickung ist ausgeprägter als vorher. Man sieht schlanke Kerne und z.T. große Löcher mit nbz, selten mit rZ. Das Ganglumen verhält sich wie in Zone 5 und 6. Nach 10 Tagen ist das Epithel überall ca. 3 mal höher als bei Kontrollen. Das Cytoplasma der Hz ist inhomogen; die Kerne liegen in mehreren Reihen. Das Lumen ist spaltförmig und nahezu leer. Nach 20 Tagen verringern sich die Protrusionen. Die Löcher sind kleiner und seltener geworden und entwickeln sich bis zum 12. mon weiter zurück.

Zone 8,9. Veränderungen treten nach 5 Tagen auf. Das Epithel ist stellenweise etwas höher; der Lumendurchmesser gering reduziert und im Lumen sind weniger Spermien

als beim Normaltier zu finden; außerdem treten intraepithelial einige rZ auf. Am 7. Tag kommen erstmals Löcher im Epithel mit nbz vor; rZ fehlen jetzt. Nach 10 Tagen ist das Epithel in Zone 8 etwa 4 mal dicker als bei Kontrollen und besitzt apikal basophile Granula; das Cytoplasma der Hz erscheint inhomogen. Basal ist die Zahl der Löcher angestiegen; verglichen mit Zone 1-7 sind sie seltener und kleiner. Das Ganglumen verhält sich wie in der vorhergehenden Zone. In Zone 9 beobachtet man diese Veränderungen 15 Tage nach Kastration. Später geht in beiden Zonen die Zahl der Vakuolen zurück.

Zusammenfassung. Nach bilateraler operativer Kastration finden sich von proximal nach distal fortschreitend folgende Veränderungen: Nach Glutaraldehydfixation bilden die Hz apikal Protrusionen aus, die nach etwa 3 Wochen verschwunden sind. Gleichzeitig nimmt die Epithelhöhe zu. 0,5 Tage nach dem Eingriff treten intraepithelial Löcher auf, die runde Zellen (rZ) oder Vakuolen enthalten, in Zone 1-3 gehäuft, in Zone 4-7 seltener und in Zone 8 und 9 nicht zu finden sind.

Nach 2-3 Tagen beobachtet man intraepithelial Zellen, die über einen kleinen basophilen Kern verfügen, den wabiges Cytoplasma umgibt. Die Zellen werden wegen ihrer basalen Lage als neue basale Zellen (nbz) bezeichnet. Die Größe der nbz schwankt von einer Zone zur anderen; sie sind überall im Nebenhodengang, besonders häufig aber in den Zonen 4-7 zu sehen. Parallel zum Auftreten der nbz wird das

Cytoplasma aller Epithelzellen inhomogen und enthält verschieden große Granula, die sich intensiv mit Methylenblau anfärben. Die Zahl der nbz und Granula nimmt spätestens nach 3 Wochen ab. Die Kerne der Hz werden schmäler und länger. Die Epithelhöhe geht ebenfalls 3 Wochen nach dem Eingriff zurück und liegt nach 1 Jahr deutlich unter der von Normaltieren.

Der Durchmesser der Ganglichtung verringert sich; die Form des Lumens variiert und erscheint oval-glatt, oval-gebuchtet, gezackt oder stern- bis spaltförmig.

Im Lumen nimmt die Zahl der Spermien ab; es treten rZ, die denen im Epithel entsprechen, sowie etwa erythrozytengroße runde Vakuolen auf. 3 Wochen nach dem Eingriff ist die Lichtung des gesamten Nebenhodenganges nahezu leer.

E n z y m h i s t o c h e m i e (Tab. 1,2 Abb. 25-33)
Nachstehend werden Veränderungen der Lokalisation und Menge des Reaktionsproduktes verglichen mit Normaltieren geschildert.

Zone 1,2. Nach 0,5 Tagen reagieren intraepithelial die runden Zellen (rZ) nach Fixation mit Formaldehyd beim Nachweis der uE mittelstark, bei dem der sß-Gal (Indigogenmethode), NAG und ß-Gluc schwach; das Reaktionsprodukt erscheint granulär oder diffus. Die α-Man reagiert schwach und nur diffus. Nach Glutaraldehydfixation besitzen neben

der uE die NAG und ß-Gluc mittlere Aktivität. Die Reaktion der intraepithelialen rZ gleicht der im Lumen. Nach 1,5 Tagen findet man in den Hz beim NAG- und ß-Gluc-Nachweis mehr verschieden große Farbstoffgranula als beim Normaltier und unter allen Zonen des Ductus epididymidis die meisten rZ. Die Hydrolasenaktivität der rZ ist in beiden Zonen angestiegen; sP und sß-Gal (Azokupplung) reagieren schwach, α-Man und sß-Gal (Indigogenverfahren) mäßig intensiv, uE und ß-Gluc teilweise stark. In den Granula der rZ sind die uE, sß-Gal (Indigogenverfahren), NAG, ß-Gluc und α-Man hochaktiv. Bei den nbz lassen sich 5 Typen unterscheiden. Hier kommen nbz vom Typ I vor; beim Nachweis der uE (Azokupplung) sind sie mit Farbstoff vollgestopft. sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG (Azokupplung) sind kaum, sß-Gal (Azokupplung), sP und ß-Gluc schwach aktiv. Nach 3 Tagen hat die Aktivität aller sauren Hydrolasen in den Hz geringfügig zugenommen. In den nbz ist die sP-, sß-Gal- und NAG-Aktivität angestiegen; die α-Man tritt erstmals auf. Nach 5 Tagen ist die α-Gal in den nbz schwach aktiv. Nach 10 Tagen geht in den Hz die sP-Aktivität zurück; am 15. Tag folgt die α-Gal.

Zone 3,4. Nach 3 Tagen findet man vor allem im stark verdickten Epithel rZ und nbz vom Typ II; letztere sind kleiner als in Zone 1 und 2 und enthalten im Unterschied zu ihnen keine uE, ß-Gluc, α-Man und α-Gal. Die rZ im Epithel besitzen geringe sP-, sß-Gal-, NAG- und -Man-Aktivität; die uE reagiert schwach oder mittelstark. Nach 5 Tagen trifft man distal nbz vom Typ III. Diese

Zellen sind größer als die vom Typ I und II und enthalten große Granula, die sP- und sß-Gal-positiv sind. Am 10. Tag reagieren in den Hz vor allem die α-Man, aber auch die sP und ß-Gluc im Vergleich zu Kontrollen schwächer. Die Bz haben sich vergrößert und setzen beim uE-Nachweis 1-Naphthylacetat (Azokupplung) relativ langsam um. Die nbz vom Typ III sind zahlreicher geworden. Nach 15 Tagen hat in den Hz die Aktivität der sß-Gal, NAG und α-Gal abgenommen, nbz vom Typ II fehlen meistens; die vom Typ III sind größer und zahlreicher als vorher und setzen sP-Substrate (Azokupplung, Azoindoxyl-, Metallsalzmethode) schnell, die für den sß-Gal-Nachweis (Azokupplungs-, Indigogen-, Azoindoxylreaktion) langsam um. 20 Tage nach dem Eingriff lassen sich die Bz beim Nachweis der uE kaum mehr von den Hz unterscheiden.

Zone 5,6. Nach 3 Tagen fehlen im Ganglumen Spermien und Hydrolasen weitgehend. Zu sehen sind wenige rZ und spärliche Mengen Reaktionsprodukt beim NAG- und sß-Gal-Nachweis. Am 5. Tag ist in den hZ vom Typ II meist die apikale Reaktionszone kleiner geworden und basal liegen weniger Lipidgranula. Daneben kommen einige nbz vom Typ III vor. Das Lumen kann stellenweise vollständig mit Sekret gefüllt sein, das mittelstarke Aktivitäten an sß-Gal (Azokupplung) und α-Man und hohe an sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG besitzt. Am 10. Tag hat in den Hz die Aktivität der sP deutlich, der sß-Gal (Azokupplung), NAG, ß-Gluc, α-Man und α-Gal etwas abgenommen. Beim Nachweis der uE und sß-Gal (Indigogenmethode) sieht man supranukleär zahlrei-

che kräftig reagierende Granula. Die Kerne erscheinen polymorph. Die nbz vom Typ III sind in Zone 5 besonders zahlreich und ebenso häufig wie Hz. In Zone 6 kommen nbz vom Typ IV vor; sie sind kleiner und besitzen weniger Granula als die vom Typ III. Die sP und uE sind hoch, die sß-Gal, NAG und ß-Gluc mäßig bis schwach aktiv. Die Grösse der Bz hat zugenommen; vor allem nach Glutaraldehydfixation reagiert in ihnen die uE weniger intensiv als beim Kontrolltier. Nach 15 Tagen fehlen in den Hz die ∝-Man und ∝-Gal. Nach 20 Tagen fällt der Nachweis aller Hydrolasen, die noch positiv reagieren (Ausnahme: uE), schwächer als vorher aus.

Zone 7. Nach 3 Tagen liegt das Reaktionsprodukt in den Hz bei sämtlichen Hydrolasennachweisen (Ausnahme: ∝-Gal) unmittelbar ober- und unterhalb der Kerne. Die Enzymaktivitäten sind etwas höher als beim Kontrolltier. Ab dem 5. Tag findet man in den Hz infranukleär (Ausnahme: NAG) kein Reaktionsprodukt mehr. Oberhalb der Basalmembran treten nbz vom Typ V auf; sie sind größer als die Bz und besitzen eine mittelstark reagierende sP, NAG und ß-Gluc und eine schwach aktive uE. Im Ganglumen sieht man einige rZ, Sekretklumpen und stellenweise sß-Gal, NAG und ∝-Man mit geringen Umsätzen. Nach 10 Tagen ist in den Hz die Aktivität der sP, ∝-Man und ∝-Gal deutlich, die der sß-Gal etwas zurückgegangen; die uE-Aktivität hat nur im distalen Teil dieser Zone abgenommen. Beim Nachweis der NAG und ß-Gluc sind weniger Farbstoffgranula zu beobachten. Die hZ vom Typ III sind vor allem distal kleiner geworden;

ihre Hydrolasenaktivität ist unverändert. Die nbz vom Typ V sind größer und zahlreicher als vorher. Beim sP-Nachweis reagieren sie mittelstark, bei dem der NAG kräftig. Am 15. Tag enthalten die Hz infranukleär keine NAG mehr. In den hZ vom Typ III ist die Aktivität aller Hydrolasen etwas zurückgegangen. Die Bz besitzen kaum noch uE-Aktivität. Nach 20 Tagen haben die Hydrolasen in den Hz praktisch ihre Restaktivität erreicht. Einige Lumenabschnitte besitzen homogenen Inhalt und reagieren beim Nachweis der sß-Gal und NAG extrem stark.

Zone 8,9. Nach 10 Tagen fällt in den Hz der sP-, uE-, sß-Gal und NAG-Nachweis schwächer und diffus aus. ß-Gluc, ∝-Man und ∝-Gal fehlen. Die hZ vom Typ IV sind kleiner geworden; ihre Hydrolasen reagieren unverändert. Das Lumen verhält sich wie in Zone 5-7.

In allen Zonen verringert sich nach 20 Tagen die Zahl der nbz. 2,4,9 und 12 mon nach dem Eingriff existiert keine klare Zonengliederung mehr. In den Hz gleicht sich die Lokalisation des Reaktionsproduktes überall im Nebenhodengang; apikal kommt kaum Farbstoff vor; zum Kern hin steigt seine Menge an und hat supranukleär ihr Maximum. Infranukleär fehlt Reaktionsprodukt. Nach 12 mon sind ß-Gluc, ∝-Man und ∝-Gal in den Hz nicht mehr, sß-Gal, sP und NAG in schwacher Aktivität nachweisbar. Relativ stark und ubiquitär reagiert nur noch die uE. Die hZ vom Typ I und II sind verschwunden. Zahl und Größe der hZ vom Typ III und IV haben sich deutlich verringert. Gleiches trifft für die nbz zu. Die Bz unterscheiden sich beim Nachweis der uE nicht mehr von Hz.

Zusammenfassung. 3 Tage nach bilateraler operativer Kastration ist die Aktivität aller Hydrolasen in den Hz etwas angestiegen; anschließend fällt sie ab. Die α-Man, α-Gal und ß-Gluc verschwinden; die Aktivität der übrigen Enzyme sinkt überall im Nebenhodengang auf gleiche Werte ab, wobei das Reaktionsprodukt supranukleär liegt; unterhalb der Kerne sieht man keinen Farbstoff mehr. Eine Ausnahme macht die uE, deren Aktivität in den Hz nur etwas absinkt. 1 Jahr nach dem Eingriff reagiert das gesamte Hz-Cytoplasma gleichmäßig und diffus positiv. Die hZ vom Typ I und II verschwinden, die vom Typ III und IV in Zone 7 bzw. 8 und 9 werden kleiner und nehmen an Zahl deutlich ab. Die Bz sind beim uE-Nachweis nicht mehr von den Hz abgrenzbar. Neu treten 5 Typen von basal gelegenen Zellen (nbz) auf, die sich enzymhistochemisch und morphologisch voneinander und von den Bz unterscheiden; die Hydrolasenaktivität der nbz ist anfänglich vor allem in Zone 4-7 extrem hoch und sinkt dann überall ab.

Unilaterale operative Kastration

Es werden nur die morphologischen und enzymhistochemischen Veränderungen in dem Nebenhoden geschildert, dessen zugehöriger Hoden entfernt wurde; der andere Nebenhoden zeigt gegenüber Kontrollen keine Veränderungen.

Morphologie

Zone 1,2. Nach 5 Tagen findet man basal im Epithel einige

Löcher, die meistens nbz enthalten. Selten liegen in den Löchern rZ. Das Ganglumen ist leer und kleiner als beim Normaltier. Nach 15 Tagen sind die Löcher kleiner geworden.

Zone 3,4. Nach 5 Tagen beobachtet man selten Löcher im Epithel. Das Lumen enthält einige rZ und erythrozytengroße runde Vakuolen. Nach 7 Tagen ist das Lumen fast leer; am 12. Tag treten basal im Epithel Löcher mit nbz auf. Die Epithelhöhe kann angestiegen sein. Der Lumendurchmesser hat abgenommen.

Zone 5,6. Am 5. Tag existieren intraepithelial Löcher mit nbz, im Lumen einige rZ, Vakuolen und Spermien. Nach 12 Tagen ist der Gangdurchmesser kleiner geworden; seine Lichtung ist leer.

Zone 7. Nach 5 Tagen sieht man im Lumen zwischen den Spermien rZ. Nach 7 Tagen hat das Epithel stellenweise an Höhe gewonnen; im basalen Bereich erscheinen einige Löcher mit nbz. Das Ganglumen beginnt sich zu leeren. Am 12. Tag ist das Epithel nahezu überall etwa 1,5 mal höher. Die intraepithelialen Löcher sind zahlreicher, der Durchmesser des Lumens kleiner geworden; Lumeninhalt fehlt praktisch. Nach 15 Tagen ist die Epitheloberfläche sanft gebuchtet. Der Lumendurchmesser hat sich weiter verringert und ist etwa halb so groß wie beim Kontrolltier. Nach 9 mon ist das Epithel mehrreihig, aber weit weniger ausgeprägt als nach bilateraler Kastration. Die Epithelbuchten sind tiefer als vorher; das Lumen ist noch kleiner geworden.

Zone 8,9. Am 12. Tag treten intraluminal rZ auf. Nach 15 Tagen finden sich hier weniger Spermien als beim Normaltier. In Zone 8 sind Zahl und Größe der Gangquerschnitte leicht, nach 9 mon stärker zurückgegangen.

Zusammenfassung. Die morphologischen Veränderungen nach einseitiger Kastration ähneln denen nach bilateraler Gonadektomie, sind aber wesentlich schwächer ausgeprägt. Anfänglich treten nur proximal, später zusätzlich distal leichte Verdickungen des Epithels sowie intraepitheliale rZ und nbz auf. Nach 9 mon fehlen die intraepithelialen rZ; das Epithel hat normale Höhe, und die Zahl der nbz ist deutlich zurückgegangen; die Kerne der Hz liegen stellenweise mehrreihig. Sofort nach dem Eingriff beginnt sich das Lumen in proximodistaler Richtung zu leeren; gleichzeitig treten im Ganglumen einige rZ und erythrozytengroße runde Vakuolen auf, die zusammen mit den Spermien im Ductus deferens verschwinden. Der Lumendurchmesser verringert sich etwas; die Form der Querschnitte bleibt lange Zeit gleichmäßig oval; erst nach 9 mon erscheint das Lumen gebuchtet.

E n z y m h i s t o c h e m i e

Zone 1,2. Am 5. Tag reagieren die uE, NAG und ß-Gluc in den Granula der nbz vom Typ I kräftig, die sß-Gal (Indigogenmethode) mittelstark, die sP und sß-Gal (Azokupplung) schwach. Die intraepithelialen rZ sind beim uE-Nachweis hochaktiv, bei dem der sß-Gal (Indigogenmethode), sP, NAG

und ß-Gluc mäßig und bei Untersuchungen der sß-Gal (Azokupplung) und α-Man schwach aktiv. Nach 7 Tagen reagieren sP und sß-Gal (Indigogenmethode) kräftig. Am 12. Tag ist in den Hz die Aktivität von sß-Gal und ß-Gluc etwas geringer als beim Normaltier. Beim α-Man- und α-Gal-Nachweis liegen supranukleär einige stark reagierende Granula, die beim Normaltier fehlen. Zahl und Größe der nbz haben abgenommen; nach 15 Tagen ist in ihnen die Aktivität aller Hydrolasen geringer als vorher.

Zone 3,4. Nach 5 Tagen trifft man einige nbz vom Typ II an, die etwas größer als die Bz sind. sP, uE, sß-Gal (Indigogenverfahren), NAG und ß-Gluc reagieren mittelkräftig, die sß-Gal (Azokupplung) schwach. Intraepitheliale rZ besitzen mittlere uE- und NAG-Aktivität; die der sP, sß-Gal, ß-Gluc und α-Man ist niedrig; die intraluminalen rZ enthalten dieselben Hydrolasen, allerdings mit geringerer Aktivität. Eine Ausnahme macht die α-Man, die stärker als in den intraepithelialen rZ reagiert. Nach 15 Tagen ist die ß-Gluc in den Hz weniger aktiv als beim Kontrolltier.

Zone 5,6. Am 5. Tag ist die Reaktionszone der hZ vom Typ I und II und die Zahl der Lipidgranula kleiner geworden. Es sind nbz vom Typ IV zu erkennen, die bei Untersuchung der sP und sß-Gal (Indigogenmethode) schwach, bei der der NAG und ß-Gluc mittelstark reagieren. Die rZ im Lumen enthalten geringe sP- und sß-Gal-Aktivität; schwach bis mittelstark reagieren die uE, NAG, α-Man und ß-Gluc. Die Nachweise von NAG und ß-Gluc fallen überwiegend

granulär aus. Zusätzlich liegt im Lumen diffus verteiltes und homogen erscheinendes sowie klumpiges Reaktionsprodukt. Nach 7 Tagen hat in den Hz die Aktivität der ß-Gluc, in den hZ vom Typ I und II die der uE abgenommen; nbz fehlen. Am 15. Tag reagieren in den hZ vom Typ II die sß-Gal, NAG, ß-Gluc und vor allem die uE schwächer als bei Kontrollen.

Zone 7. Nach 5 Tagen enthalten die intraluminalen rZ, sP, sß-Gal (Azokupplung) und ß-Gluc in geringer, sß-Gal (Indigogenverfahren) und α-Man in mittlerer Aktivität. Die uE und NAG sind schwach bis stark aktiv. Nach 12 Tagen ist in den Hz die ß-Gluc-Aktivität abgesunken. Gelegentlich liegen im Epithel nbz vom Typ V, deren Granula hohe Aktivitäten an sP, NAG und ß-Gluc und mittlere an sß-Gal besitzen. Die Bz sind größer geworden. Das Ganglumen verfügt über weniger Farbstoff und Zellen. Nach 15 Tagen sind die hZ vom Typ III verkleinert; ihre Hydrolasen sind besonders im proximalen Abschnitt dieser Zone schwächer aktiv als bei Kontrolltieren; nbz fehlen. Nach 4-9 mon reagiert außer der deutlich weniger aktiven ß-Gluc die sP etwas geringer als bei Kontrollen.

Zone 8,9. Nach 10 Tagen existieren im Lumen rZ. Nach 15 Tagen hat in den Hz die NAG- und ß-Gluc-Aktivität abgenommen. In den hZ vom Typ IV reagieren die sß-Gal, NAG und ß-Gluc schwächer.

Zusammenfassung. In den Hz verringert sich die Aktivität der ß-Gluc deutlich, die der sP etwas. Die nbz lassen sich

durch ihre differente Größe, vor allem aber durch ihre unterschiedlichen Enzymaktivitäten in mehrere Typen unterteilen. Die Hydrolasenaktivität der rZ schwankt von einer Zone zur anderen. In den hZ vom Typ I und II verkleinert sich die apikale Reaktionszone; die Zahl der basal gelegenen, negativ reagierenden Lipidgranula nimmt ab; die uE-Aktivität geht stark, die der sß-Gal, NAG und ß-Gluc wenig zurück. In den hZ vom Typ III und IV reagieren die sß-Gal, NAG und ß-Gluc etwas schwächer als bei Kontrolltieren.

Chemische Kastration

Morphologie

Zone 1,2. Nach 21 Tagen hat sich die Epithelhöhe in Zone 1 etwas verringert. Das Lumen beginnt sich proximal zu leeren. Nach 40 Tagen ist das Epithel in Zone 1 wieder ebenso hoch wie beim Kontrolltier. Gelegentlich liegen basal im Epithel einige nbz. Im Lumen kommen neben wenigen Spermien einige Spermatiden vor. Nach 84 Tagen ist die Zahl der Löcher mit nbz angestiegen. Der Lumendurchmesser ist kleiner geworden; das Lumen selbst leer oder mit homogenem basophilen Material gefüllt.

Zone 3,4. Nach 40 Tagen beginnt sich das Lumen zu leeren; es enthält einige Spermatiden und runde Vakuolen. Nach 84 Tagen sind die Hz etwas höher und ihre Kerne größer als beim Normaltier; die Kerne bilden stellenwei-

se mehrere Reihen. Basal liegen im Epithel viele nbz, z.T. mit Granula. Der Lumendurchmesser hat sich verkleinert; der Lumeninhalt besteht aus wenigen Spermatiden.

Zone 5,6. Nach 40 Tagen beginnt sich das Lumen zu leeren. Nach 84 Tagen ist das Epithel höher geworden; die Kerne der Hz sind etwas vergrößert und bilden Reihen. Die intraepithelialen Löcher sind größer als in Zone 3 und 4. Das Ganglumen ist bis auf wenige Spermatiden leer; sein Durchmesser ist massiv reduziert.

Zone 7. Nach 21 Tagen ist die Epithelhöhe deutlich angestiegen; die Kerne der Hz sind leicht vergrößert und liegen mehrreihig. Das Lumen ist vor allem distal klein. Nach 40 Tagen treten intraepithelial einige nbz auf. Nach 84 Tagen ist das Epithel doppelt so hoch wie beim Normaltier und unregelmäßig dick. Die Zahl der Löcher mit nbz ist etwas, aber weniger als in Zone 5 und 6 angestiegen. Vereinzelt existieren im Epithel granulierte Vakuolen. Das Lumen ist gebuchtet, sternförmig oder gezackt und enthält wenig Spermatiden.

Zone 8,9. Am 21. Tag ist das Epithel leicht verdickt, das Ganglumen entsprechend verkleinert. Nach 84 Tagen ist das Epithel stellenweise stark verdickt. Die Kerne der Hz sind etwas vergrößert und bilden mehrere Reihen. Basal sieht man zahlreiche Löcher mit nbz. Das Lumen ist proximal stärker als distal verkleinert und enthält wenige Spermatiden und basophile Klumpen; teilweise ist es gebuchtet und unregelmäßig geformt.

Zusammenfassung. Mit Ausnahme von Zone 1 wird das Epithel überall im Nebenhoden dicker. Die Kerne liegen in mehreren Reihen. Basal treten nbz auf. Das Ganglumen leert sich. Zwischen den Spermien liegen vereinzelt Spermatiden. Der Lumendurchmesser geht zurück; die Form des Lumens ist gebuchtet bis sternförmig.

E n z y m h i s t o c h e m i e

Zone 1,2. Nach 21 Tagen sind keine Veränderungen zu sehen. Nach 40 Tagen besitzen die nbz vom Typ I hohe sP-, uE-, sß-Gal-, NAG-, ß-Gluc- und α-Gal-Aktivitäten. Nach 84 Tagen sind die nbz weniger zahlreich; sP, sß-Gal, ß-Gluc und α-Gal sind schwach aktiv. Die Klumpen im Ganglumen reagieren uE-positiv.

Zone 3,4. Nach 21 und 40 Tagen verhält sich das Epithel wie beim Normaltier. Nach 84 Tagen ist die α-Man in den Hz weniger aktiv als bei den Kontrollen; die nbz vom Typ II sind etwas kleiner als die vom Typ I und reagieren nur beim Nachweis der sP mittelkräftig.

Zone 5,6. Nach 21 Tagen ist in den hZ vom Typ II die Aktivität der uE etwas, nach 40 Tagen stark vermindert; außerdem sind dann die sß-Gal- und ß-Gluc-Aktivität zurückgegangen. Nach 84 Tagen reagiert in den Hz die sP schwächer, die α-Man fehlt. Es treten nbz vom Typ III und IV auf, deren Durchmesser nahezu Epithelhöhe erreicht; in den nbz vom Typ III haben die uE und sß-Gal starke,

die NAG und ß-Gluc mittlere und sP schwache Aktivität. Typ IV enthält eine hochaktive uE, schwach aktive sß-Gal (Indigogenverfahren) und NAG und keine sP. Im Lumen reagieren Spermatiden beim Nachweis der sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG.

Zone 7. Nach 21 Tagen fällt in den Hz der sP-Nachweis etwas, der der α-Man deutlich schwächer als beim Normaltier aus. Im distalen Teil der Zone 7 finden sich einige nbz vom Typ V, die kaum größer als Basalzellen sind und eine schwach aktive sP, sß-Gal (Azokupplung) und ß-Gluc sowie eine hochaktive sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG besitzen. Nach 40 Tagen hat die ß-Gluc in den Hz etwas an Aktivität verloren. Die Bz sind vergrößert und besitzen unverändert uE. Nach 84 Tagen sind in den Hz die Aktivitäten der sP und ß-Gluc weiter zurückgegangen;die α-Man fehlt. sP-, ß-Gluc-, NAG- und α-Man-positive Granula lassen sich ebenfalls nicht mehr im apikalen und basalen Cytoplasma darstellen. Die hZ vom Typ III und IV sind seltener und kleiner geworden. Man sieht nbz vom Typ V, die deutlich größer als die Bz, aber kleiner als die nbz vom Typ III und IV sind. Sie besitzen mäßig aktive sP und NAG und schwach aktive sß-Gal (Indigogenmethode). Im Lumen können die sß-Gal und NAG schwach positiv reagieren.

Zone 8,9. Nach 21 Tagen sind in den Hz die ß-Gluc, vor allem aber die α-Man weniger aktiv als beim Kontrolltier. Die hZ vom Typ IV enthalten kaum noch α-Man. Nach 84 Tagen ist in den Hz auch die Aktivität der sP und NAG

zurückgegangen; die ∝-Man ist nicht mehr nachzuweisen. nbz vom Typ V kommen vereinzelt vor; sP, sß-Gal und ß-Gluc sind schwach, die NAG ist mäßig aktiv. Die hZ vom Typ IV sind seltener und kleiner geworden. Im Lumen sieht man beim Nachweis der uE, sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG durchschnittlich etwas klumpigen und diffus verteilten Farbstoff.

Zusammenfassung. In den Hz reagieren die sP, ∝-Man und ß-Gluc überall, die NAG stellenweise schwächer als bei Normaltieren. In den hZ vom Typ I und II verliert vor allem die uE, weniger die sß-Gal und ß-Gluc an Aktivität. Die hZ vom Typ III und IV werden kleiner und seltener. Die Bz vergrößern sich; ihre uE-Aktivität ändert sich kaum. Die nbz können wegen ihrer unterschiedlichen Größe und Enzymaktivitäten in mehrere Typen unterteilt werden. Im Gegensatz zu Kontrollen kommt im Lumen die uE vor. Die Spermatiden enthalten sß-Gal und NAG. Die Aktivität der Lumenhydrolasen sinkt etwas ab.

Bilaterale operative Kastration mit sofortiger Testosteronsubstitution

Substitution mit Sesamöl zeigt keinen Effekt.

Morphologie

Zone 1,2. Im Epithel sieht man basal einige nbz. Das Lumen ist leer; sein Durchmesser ist leicht verringert,

seine Form gleichmäßig rund oder oval.

Zone 3-6. Das Ganglumen ist zellfrei.

Zone 7. Das Epithel ist unregelmäßig verdickt und kann doppelt so hoch wie bei nicht kastrierten Kontrolltieren sein. Die Kerne sind vergrößert; selten bilden sie mehrere Reihen. Basal treten nbz auf. Die Ganglichtung ist gebuchtet oder sternförmig und enthält etwas basophiles Material, aber keine Zellen.

Zone 8,9. Das Epithel ist stellenweise leicht verdickt. Im Lumen kommen zahlreiche Spermien vor, zwischen denen wenige rZ liegen.

E n z y m h i s t o c h e m i e

Zone 1,2. Die nbz vom Typ I besitzen mittelstarke sP-, sß-Gal (Azokupplung)-, ∝-Gal- und ß-Gluc-Aktivität; die uE, sß-Gal (Indigogenverfahren) und NAG sind hochaktiv.

Zone 3,4. Die Befunde entsprechen denen beim nicht kastrierten Kontrolltier.

Zone 5,6. In den hZ vom Typ I und II reagiert die uE nahezu negativ. Das zellfreie Lumen enthält beim Nachweis der sß-Gal, ∝-Man und NAG ebenso viel Farbstoff wie beim Normaltier.

Zone 7. In den Hz hat die Aktivität der ß-Gluc abgenommen; distal treten nbz vom Typ V auf, die hohe sP-, sß-Gal-, NAG- und ß-Gluc-Aktivität besitzen; die α-Gal reagiert mittelstark. Im Gegensatz zum Normaltier buckeln sich die hZ vom Typ III deutlich ins Lumen vor. In der Ganglichtung findet man vereinzelt rZ, in denen die sP schwach, die uE mittelkräftig und die sß-Gal und NAG stark positiv reagieren; gelegentlich sieht man in den rZ außerdem ß-Gluc-positive Granula. Die Lichtung enthält beim Nachweis der sß-Gal, NAG und α-Man weniger Reaktionsprodukt als bei den nicht kastrierten Kontrollen.

Zone 8 und 9 verhalten sich wie bei Normaltieren.

Bilaterale operative Kastration mit verzögerter Testosteronsubstitution

Es werden nur die Unterschiede zur sofortigen Substitution beschrieben.

Morphologie

Zone 7. Das Epithel ist dicker; seine Kerne liegen meist mehrreihig. Die Lichtung ist stark verkleinert und erscheint stellenweise schlitzförmig.

Zone 8,9. Der Lumendurchmesser ist etwas reduziert; die Lichtung enthält basophiles klumpiges und schleierartiges Material, aber kaum Spermien.

E n z y m h i s t o c h e m i e

In den Hz des gesamten Ductus epididymidis reagieren die ß-Gluc und α-Man schwächer als nach sofortiger Substitution.

In Zone 7 fehlen Hydrolasen im basalen Cytoplasma der Hz. Die hZ vom Typ III und IV sind wesentlich kleiner als nach sofortiger Testosteronsubstitution.

K r y p t o r c h i s m u s

M o r p h o l o g i e

Zone 1,2. Nach 2 Tagen sieht man speziell in Zone 1 einige Löcher, die rZ oder nbz enthalten. Im Lumen hat sich die Zahl der Spermien verringert; statt dessen kommen zahlreiche Spermatiden und vereinzelt rZ vor. Am 5. Tag ist das Lumen in Zone 1 leer; in Zone 2 sind noch viele Spermatiden und vereinzelt rZ zu erkennen; Spermien fehlen. Nach 7 Tagen ist das Epithel der Zone 2 dicker geworden; in Zone 1 enthält es nbz; rZ sind selten. Das Ganglumen ist leer und klein. Nach 15 Tagen sind kaum noch intraepitheliale Löcher zu sehen.

Zone 3,4. Nach 2 Tagen ist das Epithel überall leicht verdickt. Im Lumen liegen neben den Spermien wenige Spermatiden und rZ. Am 5. Tag ist das Epithel stellenweise flacher geworden, das Lumen mit Spermatiden vollgestopft.

Nach 7 Tagen hat die Ganglumenweite abgenommen; das Lumen selbst beginnt sich zu leeren. Ab dem 15. Tag treten keine weiteren Veränderungen auf. Bis 8,5 mon nach dem Eingriff ist das Epithel gelegentlich leicht und gleichmäßig verdickt, das Lumen verkleinert und leer.

Zone 5,6. Nach 5 Tagen ist das Epithel überall mäßig verdickt. Im Lumen sieht man zahlreiche Spermatiden und verklumpte Spermienbruchstücke. Am 7. Tag treten basal im Epithel Löcher auf, die meistens nbz und kaum rZ enthalten. Nach 15 Tagen ist das Epithel normal hoch. Die Löcher sind kleiner geworden und frei von rZ. Das Lumen ist nahezu leer, sein Durchmesser verringert. Nach 30 Tagen ist das Epithel einiger Gangquerschnitte etwa doppelt so dick wie beim Normaltier, das Lumen entsprechend enger. Nach 40 Tagen hat das Epithel weiter an Dicke gewonnen. Nach 4, vor allem aber nach 8,5 mon gehen die Epithelveränderungen zurück.

Zone 7. Nach 5 Tagen ist das Epithel stellenweise verdickt; im Lumen erscheinen proximal die ersten Spermatiden. Am 7. Tag ist das Epithel noch höher; basal findet man Löcher mit nbz. Das Ganglumen ist besonders distal verkleinert. Im Lumen sind überall Spermatiden, selten Spermien zu erkennen. Nach 15 Tagen werden die intraepithelialen Löcher kleiner, ebenso das Lumen, das speziell distal unregelmäßig gebuchtet oder gezackt und fast leer ist. Am 30. Tag liegen die Kerne des stark verdickten Epithels in mehreren Reihen. Nach 4 und vor allem 8,5 mon bilden sich diese Veränderungen zurück; das Epithel

ist weniger dick als vorher und das Lumen regelmäßig begrenzt aber leer.

Zone 8,9. Nach 7 Tagen ist das Epithel vor allem in Zone 8 höher als beim Kontrolltier. Basal treten intraepithelial einige Löcher mit nbz auf. Der Lumendurchmesser hat abgenommen; den Lumeninhalt bilden viele Spermatiden und wenige Spermien. Nach 15 Tagen ist das Epithel etwa doppelt so dick wie bei den Kontrollen. Das Lumen hat sich verkleinert und zwar besonders in Zone 8; nach 22 Tagen hat es seinen kleinsten Durchmesser und erscheint unregelmäßig gebuchtet oder gezackt. In Zone 9 besitzen einige Lumina noch normale Größe und Form. Nach 30 Tagen ist das Lumen fast leer. Nach 4 oder 8,5 mon ist das Epithel flacher als vorher, die Zahl der intraepithelialen Löcher vermindert und die Ganglichtung weiter als nach 30 Tagen.

Zusammenfassung. Kryptorchismus führt in allen Zonen des Nebenhodenganges zu einer fortschreitenden leichten Verdickung des Epithels. Basal treten im Epithel überall einige Löcher auf, die manchmal, und dann vorwiegend im Nebenhodenkopf, rZ enthalten. Meist liegen in den Löchern Zellen mit kleinen Kernen, die über ein feines netzartiges Cytoplasma verfügen (neue basale Zellen; nbz). Später gehen Epithelverdickung und Zahl der Löcher zurück. Die Spermien "wandern" den Ductus epididymidis hinunter und verschwinden; ihnen folgen Spermatiden, die den Nebenhodengang distal ebenfalls verlassen, oder vorher zer-

fallen; das Lumen leert und sein Durchmesser verringert sich.

E n z y m h i s t o c h e m i e (Tab. 1,2, Abb. 34,35-40) Zone 1,2. Nach 2 Tagen findet man in den Hz der Zone 1 einige Granula, die uE, sß-Gal, NAG und ß-Gluc besitzen. In Zone 2 liegen wenige nbz vom Typ I, in denen die uE, sß-Gal (Indigogenverfahren) und NAG stark, die sP, sß-Gal (Azokupplung) mittelstark und die ß-Gluc schwach reagieren. Die Spermatiden sind enzymfrei. Die rZ sind beim Nachweis der uE und NAG schwach bis mittelgradig, bei dem der sß-Gal, ß-Gluc und α-Man schwach aktiv. Nach 5 Tagen hat die Zahl der stark reagierenden Granula in den Hz der Zone 1 abgenommen. Die nbz vom Typ I reagieren beim Nachweis der uE und NAG kräftig, bei dem der sP, sß-Gal und ß-Gluc mittelkräftig. Nach 30 und 40 Tagen kommen nur noch wenige nbz vor.

Zone 3,4. Am 2. Tag tritt in einzelnen Spermatiden die NAG in schwacher bis mittelstarker Aktivität auf. Nach 5 Tagen enthalten diese Zellen nur in Zone 4 und nach Glutaraldehydfixation zusätzlich sß-Gal (Indigogenverfahren). Am 15. Tag sind nbz vom Typ II zu erkennen, in denen die sP mäßig, die NAG und ß-Gluc schwach aktiv sind. Nach 40 Tagen fehlen nbz.

Zone 5,6. Nach 5 Tagen und im Anschluß an Glutaraldehydfixation verfügen die Spermatiden über gering aktive

sß-Gal (Azokupplung) und sß-Gal (Indigogenmethode) und NAG mittlerer Aktivität. Nach Fixation in Formaldehyd sind die Hydrolasenaktivitäten in den Spermatiden niedriger als nach Glutaraldehydfixation. Nach 7 Tagen ist in den hZ vom Typ I und II die apikale Reaktionszone kleiner als beim Normaltier. In den Spermatiden sieht man jetzt auch α-Man; am stärksten reagiert die NAG. Nach 15 Tagen ist die sP in den Hz weniger aktiv als beim Kontrolltier. Basal liegen im Epithel einige nbz vom Typ IV; in ihnen reagieren sP, sß-Gal (Indigogenverfahren) mittelkräftig, sß-Gal (Azokupplung) und sß-Gluc schwach. Im Ganglumen existiert beim sß-Gal- und NAG-Nachweis viel schleierartiges und klumpiges Reaktionsprodukt. Nach 22 Tagen ist die uE-Aktivität der hZ abgefallen. Nach 30 und 40 Tagen sind in den Hz die NAG und ß-Gluc weniger aktiv als vorher. In den hZ hat sich ihre Reaktionszone weiter verkleinert; die uE fehlt. Nach 4 und 8,5 mon verhalten sich die Hydrolasen der Hz wie beim Normaltier. In den hZ ist keine uE nachweisbar; die ß-Gluc bleibt schwach aktiv.

Zone 7. Nach 5 Tagen reagiert in den Hz die sP verglichen mit Kontrollen etwas schwächer. Die wenigen Spermatiden enthalten sß-Gal (Azokupplung) in geringer, die sß-Gal (Indigogenverfahren) und NAG in mittlerer Aktivität. Im distalen Bereich dieser Zone ist die Hydrolasenaktivität in den Spermatiden höher als proximal. Alle Hydrolasennachweise fallen in den Spermatiden und im Lumen nach Glutaraldehydfixation stärker als nach Fixation

in Formaldehyd aus. Am 7. Tag reagiert in den Hz die NAG, ß-Gluc und α-Man weniger intensiv als beim Kontrolltier. Die sP-Aktivität ist weiter zurückgegangen. Die Bz sind etwas größer als beim Normaltier. Intraepithelial sieht man nbz vom Typ V mit mittelkräftiger sP- und starker NAG- und ß-Gluc -Reaktion; im Lumen kommen vereinzelt rZ vor, in denen der uE-Nachweis z.T. kräftig ausfällt. Nach 15 Tagen sind die hZ vom Typ III vor allem proximal in Zone 7 kleiner, die Bz überall größer geworden. In den nbz vom Typ V kommt die sß-Gal vor; am 22. Tag fehlen diese nbz weitgehend. Die Hz enthalten basal wieder NAG-, sP- und ß-Gluc-positive Granula. Die ß-Gluc und α-Man sind nur in den infranukleär gelegenen Granula anzutreffen. Größe und Zahl der hZ haben abgenommen. Nach 30 Tagen ist in den Hz die sß-Gal (Azokupplung) kaum noch faßbar. Nach 4 und 8,5 mon bilden sich alle Veränderungen zurück; lediglich die sP und ß-Gluc reagieren in den Hz weniger intensiv als bei Kontrolltieren.

Zone 8,9. Nach 5 Tagen besitzen einige Spermatiden hohe sß-Gal (Indigogenmethode)- und NAG- sowie niedrige sß-Gal (Azokupplung)- und α-Man-Aktivität. Am 7. Tag treten nbz vom Typ V auf; sie reagieren mittelstark beim sP- und sß-Gal-, stark beim NAG und ß-Gluc-Nachweis. Nach 22 Tagen sind weniger nbz vom Typ V, nach 30 Tagen verglichen mit Kontrollen weniger und kleinere hZ vom Typ IV vorhanden.

Zusammenfassung. Im Ganglumen treten anfänglich enzym-negative Spermatiden auf, die ab Zone 5 sämtliche Ganglumenhydrolasen enthalten. In den Hz nimmt die Aktivität der meisten Hydrolasen in allen Zonen vorübergehend ab; am deutlichsten sind die Aktivitätsverluste in Zone 7 und 8. Im Gegensatz zur Kastration ändert sich die Reaktion der Granula im basalen Cytoplasma der Hz nur passager. Nach 8,5 mon entspricht die Aktivität fast aller Hydrolasen nahezu vollständig der von Normaltieren. In den hZ vom Typ I und II in der Zone 5 und 6 geht die uE- und ß-Gluc-Aktivität irreversibel und deutlich zurück; die basal gelegenen Lipidgranula sind kaum mehr zu erkennen. Die hZ vom Typ III und IV der Zone 8 werden vorübergehend kleiner und nehmen an Zahl ab. Die Bz werden größer.

DISKUSSION

Das Hydrolasensystem in den Lysosomen des Epithels und im Lumen des Nebenhodenganges von Ratten und seine Regulation waren bisher weitgehend unbekannt. Unsere Untersuchung zeigt, daß Epithelzellen, intraepitheliale Lymphozyten und Lumen des Ductus epididymidis zonal different mit den unterschiedlichsten sauren Hydrolasen (unspezifische Esterasen, Glykosidasen, Proteasen, unspezifische Phosphatasen) ausgerüstet sind. Bei einigen Resultaten hängen die Ergebnisse von der eingesetzten Methode ab. Für die Regulation der Epithel- und Lumenhydrolasen sind vor allem die Hodenandrogene, eventuell

aber auch andere Faktoren verantwortlich und unterhalten durch lokal verschiedene Effekte das hochkomplexe epitheliale und luminale Hydrolasensystem; je nach Zone und Zellart wird das Nebenhodenepithel durch Androgene möglicherweise unterschiedlich bzw. mit unterschiedlichem Effekt gesteuert.

Die Reaktion des Nebenhodenepithels nach Kastration und Kryptorchismus läuft im Epididymis in proximodistaler Richtung ab und läßt sich prinzipiell in 3 Phasen untergliedern. In der Initialphase reagiert das Epithel nach Kastration zonenspezifisch; nach Kryptorchismus erscheinen dann im Nebenhodengang Spermatiden und inkorporieren die Ganglumenhydrolasen. Alle Kastrationsbefunde zusammen deuten auf die Existenz von androgensensitiven und androgeninsensitiven Hauptzellen hin und liefern vielleicht neue Einblicke in den Mechanismus, durch den die Hodenandrogene das Nebenhodenepithel regulieren.

G e w e b e v o r b e h a n d l u n g s - u n d N a c h w e i s m e t h o d e n

Bei der Interpretation der von den jeweiligen Hydrolasen in den verschiedenen Zellarten und Zonen des Nebenhodenganges produzierten Farbstoffmengen sind die eingesetzten Gewebevorbehandlungs- und Nachweismethoden (Substrate, Hilfsreagentien) zu berücksichtigen. Als Gewebevorbehandlung bzw. Fixation haben wir überwiegend Formaldehyd und Glutaraldehyd gegenüber gefriergetrock-

neten celloidin-montierten Kryostatschnitten den Vorzug gegeben, obwohl Celloidin durchschnittlich alle von uns untersuchten Hydrolasen weniger inhibiert als diese Aldehyde (Gossrau, 1976 a; Lojda et al., 1976 a, 1979; Pearse, 1980), und die Lokalisation der Farbstoffe verglichen mit Schnitten von aldehyd-fixierten Nebenhodenblöcken ebenso präzis (Azoverfahren mit Naphthol-AS-BI- oder Naphthol-AS-TR-Substraten, Azoindoxylmethoden, Indigogenreaktion) oder exakter ist (Azomethoden mit Peptid-4-methoxy-2-naphthylamiden); lediglich das Metallsalzverfahren zum Nachweis der sauren Phosphatase und die Azoreaktionen zur Glykosidasendarstellung mit 1-Naphthylsubstraten lokalisieren in gefriergetrockneten celloidin -montierten Schnitten weniger genau (Gossrau, 1976a; Lojda et al., 1979). Schnitte von aldehyd-fixierten Nebenhodenblöcken lassen sich schneller verarbeiten und einfacher handhaben; im Gegensatz zu gefriergetrockneten Schnitten zerfallen sie z.B. nicht, wodurch die Topographie der einzelnen Zonen des Nebenhodenganges immer erhalten bleibt, und erlauben die bessere Darstellung der Hydrolasen in den hellen Zellen des Ductus epididymidis.

Bei den eingesetzten Methoden zum histochemischen Hydrolasennachweis im Nebenhoden ist zu bedenken, daß bei mehreren verfügbaren Substraten das einzelne Substrat von der gleichen Hydrolase unterschiedlich schnell gespalten, oder das einzige vorhandene Substrat langsam oder gar nicht umgesetzt wird, und die Hydrolasen von den Hilfsreagentien (Diazoniumsalze, Blei- und Eisenionen) verschieden stark gehemmt werden (Pearse, 1969, 1972; Lojda et al., 1976a,

1979; Gossrau, 1980 b). Hierdurch können Aktivitätsunterschiede vorgetäuscht werden, die tatsächlich nicht existieren. Die unspezifischen Esterasen hydrolysieren z.B. schnell 1-Naphthylacetat und sind damit in allen Zellen des Nebenhodenepithels faßbar, nicht dagegen mit dem 5-Br-3-Indoxylderivat, dessen Umsatzrate niedriger liegt. Gleiches gilt für den Nachweis der sauren ß-D-Galactosidase sowie der Dipeptidylpeptidase I und II in den Hauptzellen, hellen Zellen und Flaschenzellen (Sun und Flickinger, 1979; Zunke und Gossrau, 1980 a) mit 5-Br-4-Cl-3-Indoxyl- und 1-Naphthyl-ß-D-galactosid, Gly-Arg-4-methoxy-2-naphthylamid bzw. Lys-Pro-4-methoxy-2-naphthylamid; hohe Umsätze erlaubt beim Nachweis der sauren ß-S-Galactosidase nur das Indoxylsubstrat; im Fall der Dipeptidylpeptidase I und II (Mc Donald et al., 1971; Mc Donald und Schwabe, 1977) entstehen mit Gly-Phe-4-methoxy-2-naphthylamid bzw. Lys-Ala-4-methoxy-2-naphthylamid geringere Mengen Azofarbstoff als mit den hier meistens benutzten Substraten (Gossrau, 1980 c; Gossrau und Lojda, 1980 a,b). Für die α-D-Galactosidase und α-D-Mannosidase haben biochemisch-photometrische Messungen in Nebenhodenhomogenaten mit Nitrophenyl- und Naphthylsubstraten (Conchie und Hay, 1957; Conchie und Findlay, 1959; Conchie et al., 1959; Mann, 1964, Lit.; Dott, 1969, Lit.; Gossrau, 1977 b), vor allem aber mikrochemisch-fluorometrische Analysen mit den entsprechenden Methylumbelliferylglycosiden in Gruppen isolierter Epithelzellen (Gossrau, 1977 a, 1979 a) ergeben, daß beide Glycosidasen im Nebenhoden von Ratten nahezu ebenso aktiv sind wie z.B. die

saure ß-D-Galactosidase oder ß-D-N-Acetylglucosaminidase; allerdings sind Nitrophenol- und Methylumbelliferonsubstrate noch nicht zum ortsgetreuen histochemischen Hydrolasennachweis geeignet (Gossrau, 1980 b). Für die Dipeptidylpeptidase I können wir zeigen, daß sie im Nebenhoden an sich wesentlich aktiver als die Dipeptidylpeptidase II ist, als Thiolprotease durch Diazoniumsalze jedoch stark inhibiert wird (Gossrau und Lojda, 1980 b) bzw. nur scheinbar geringe Umsatzraten besitzt. Deshalb sind Aussagen über die absoluten Aktivitäten der untersuchten Hydrolasen im gleichen Zelltyp nicht oder nur mit Einschränkungen möglich (vgl. Hartmann und Gossrau, 1978; Strauß und Gossrau, 1980: Dünndarm).

Darüber hinaus ist auch bei den Hydrolasen im Nebenhoden mit Isoenzymen zu rechnen, die auffällige Substratpräferenzen aufweisen können; z.B. ist die saure Phosphatase der hellen Zellen sicher nur mit 2-Glycerophosphat (vgl. Nikkanen und Vanha-Perttula, 1976, 1977), die in den Mikrovilli mit 5-Br-4-Cl-3-Indoxylphosphat (Gossrau, 1978), und die unspezifischen Esterasen der Basalzellen sind ausschließlich mit 1-Naphthylacetat faßbar. Speziell für die unspezifischen Esterasen im Nebenhoden von Mäusen sind seit langem bis zu 10 verschiedene Isoenzyme mit differenter Substratpräferenz bekannt (Allen und Hunter, 1960). Unsere Befunde mit 5-Br-3-Indoxyl- und 1-Naphthylacetat und einigen anderen Esterasensubstraten (Gossrau, unveröff.) deuten auf ähnliche Möglichkeiten für den Nebenhoden der Ratte hin. Wie sich diesbezüglich die Proteasen

und Glycosidasen verhalten, untersuchen wir augenblicklich durch elektrophoretische Auftrennung von Nebenhodenhomogenaten und anschließende Inkubation der Elpherogramme mit den jeweiligen histochemischen Inkubationsmedien und verschiedenen chromogenen Substraten. All diese Einschränkungen bedeuten aber nicht, daß die Aktivitätsdifferenzen der einzelnen Hydrolasen in den verschiedenen Zonen und Zellen infolge Verwendung ungeeigneter Substrate lediglich vorgetäuscht sind; sie existieren vielmehr methodenunabhängig und sind z.B. auch bei den mikrochemisch-fluorometrischen Glycosidasenmessungen (Gossrau, 1977 a, 1979 a) vorhanden. Außerdem gehen speziell die Unterschiede bei den lysosomalen Hydrolasenaktivitäten in den Epithelzellen mit Differenzen in ihrem Lysosomenbestand (Gossrau, 1979 b; Zunke und Gossrau, 1980 b,c) weitgehend parallel.

Die Spezifität der durchgeführten Hydrolasennachweise ist relativ groß (Lojda et al., 1976 a, 1979; Gossrau, 1978); lediglich bei Darstellung der Dipeptidylpeptidase II reagiert in den Stereocilien (Mikrovilli) der Zone 1-5 die Dipeptidylpeptidase IV mit, da sie Lys-Pro-4-methoxy-2-naphthylamid ebenfalls angreift (Gossrau und Lojda, 1980 a).

Zonengliederung, Zelltypen, Lokalisation und Funktion der sauren Hydrolasen im Nebenhoden

Die Zonengliederung im Nebenhodenepithel beruht darauf, daß sich die einzelnen Zelltypen, die intrazelluläre Loka-

lisation und Menge des Reaktionsproduktes und die Hydrolasen selbst unterschiedlich verhalten und manche Zellen, z.B. die Flaschenzellen und hellen Zellen nur an ganz bestimmten Stellen im Ductus epididymidis vorkommen. Soweit einschlägige Literaturangaben über die Struktur und Enzymhistochemie des normalen Nebenhodenepithels von Ratten vorhanden sind (Dott, 1969, Lit.; Holstein, 1969; Moniem und Glover, 1972; Brandes, 1974, Lit.; Hamilton, 1975, Lit.), korrelieren sie gut mit den hier erhobenen enzymhistochemischen Befunden sowie mit unseren Semidünnschnittdaten und elektronenmikroskopischen Ergebnissen über die allgemeine Morphologie und die Verteilung und Zahl der Lysosomen im Epididymisepithel dieser Spezies (Gossrau, 1979 b; Zunke und Gossrau, 1980 a,b,c). Alle Ergebnisse sprechen dafür, daß die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesenen Hydrolasen größtenteils in den Lysosomen der Hauptzellen, Flaschenzellen und hellen Zellen lokalisiert sind. Für die saure ß-D-Galactosidase und Dipeptidylpeptidase II der hellen Zellen vom Typ III und IV sowie der Hauptzellen in Zone 7 und 8 können wir ihre lysosomale Lokalisation außerdem ultracytochemisch bestätigen (Gossrau, 1976 b; Schröder und Gossrau, 1980) die Verteilung der sauren ß-D-Galactosidase und Dipeptidylpeptidase II und weiterer Glycosidasen und Proteasen in den verschiedenen Zelltypen anderer Abschnitte des Nebenhodenganges wird z. Zt. in unserem Labor untersucht.

Ausnahmen von der lysosomalen Lokalisation machen vor allem die unspezifischen Esterasen beim Nachweis mit 1-Naph-

thylacetat und die Dipeptidylpeptidase II. Beide Hydrolasen kommen hochaktiv in Zellen vor, die ausgesprochen lysosomenarm sind (Brandes, 1974 Lit.; Hamilton, 1975, Lit.; Zunke und Gossrau, 1980 c), z.B. die unspezifischen Esterasen in den Basalzellen (Moniem und Glover, 1972) und die Dipeptidylpeptidase II in den Hauptzellen der Zone 1 und 2; die ß-D-N-Acetylglucosaminidase, ß-D-Glucuronidase, saure ß-D-Galactosidase und die α-D-Mannosidase findet man hochaktiv im basalen Cytoplasma der Hauptzellen in Zone 7, das weitgehend lysosomenfrei ist (Zunke und Gossrau, 1980 c), und die unspezifischen Esterasen extralysosomal in lysosomenreichen Zellen, z. B. in den Hauptzellen der Zone 7-10. Für die unspezifischen Esterasen nehmen wir an, daß sie in den Basalzellen vielleicht im Plasmalemm und in den Hauptzellen außer in Lysosomen in Cytoplasma, endoplasmatischem Reticulum und/oder Mitochondrien lokalisiert sind (v. Deimling und Böcking, 1976; Böcking et al., 1976); die lysosomale Esterase könnte mit der sauren Lipase (Patrick und Lake, 1969; Lojda et al., 1976 a, 1979) identisch sein. Die Dipeptidylpeptidase II kommt möglicherweise im endoplasmatischen Reticulum der Hauptzellen in Zone 1 und 2 vor, das hier reichlich vertreten ist und das gesamte supranukleäre und apikale Cytoplasma ausfüllt (Hoffer et al., 1973; Zunke und Gossrau, 1980 c); weitere Klarheit wird auch hier die ultracytochemische Untersuchung der Dipeptidylpeptidase II bringen (vgl. Schröder und Gossrau, 1980); außerdem helfen vielleicht Doppel- und Dreifachinkubationen von Hydrolasen mit differenter intrazellulärer Lokalisation und Methoden

weiter, bei denen unterschiedlich gefärbte Reaktionsprodukte entstehen.

Während sich die Hydrolasen der Hauptzellen und hellen Zellen in den einzelnen Zonen nur relativ voneinander unterscheiden, indem Menge und Lokalisation des Reaktionsproduktes differieren, und die histochemischen Befunde gut mit elektronenmikroskopischen Daten (Brandes, 1974, Lit.; Hamilton, 1975, Lit.; Gossrau, 1979 a,b; Kumar et al., 1980; Zunke und Gossrau, 1980 b,c) übereinstimmen, fallen bei der enzymhistochemischen Untersuchung der Basalzellen und intraepithelialen Lymphozyten absolute Unterschiede auf, die elektronenmikroskopisch nicht eindeutig zu erkennen sind. Für die Basalzellen lassen sich durch die unspezifische Esterase-Reaktion mindestens zwei Typen zeigen, von denen der eine diese Enzyme besitzt, der andere aber nicht. Besonders zahlreich kommen esterase-positive Basalzellen (vgl. Moniem und Glover, 1972) ab Zone 5 vor; proximal davon sind sie spärlich vertreten. Bei den intraepithelialen Lymphozyten reagieren nur die in Zone 1-7 beim Nachweis der unspezifischen Esterasen, ß-D-N-Acetylglucosaminidase, ß-D-Glucuronidase und Dipeptidylpeptidase I klar positiv, während er in denen der restlichen Zonen (Dym und Romrell, 1977; Gossrau, 1980 a; Zunke und Gossrau, 1980 a,b,c) mit den von uns benutzten Methoden negativ ausfällt; in Semidünn- und Ultradünnschnitten sind Basalzellen und Lymphozyten etwa gleich häufig und überall im Nebenhodenepithel anzutreffen (Zunke und Gossrau, 1980 b,c). Umgekehrt verhalten

sich die sog. basalen hellen Zellen in Zone 1-4, die nur morphologisch faßbar sind (Zunke und Gossrau, 1980 b,c). - Vergleicht man die intraepithelialen Lymphocyten des Nebenhodenepithels mit denen anderer Organe, fällt auf, daß sie zwar ultrastrukturell weitgehend denen im Dünndarm, Colon, Uterus, Tube und Bronchien entsprechen (Toner und Ferguson, 1971; Bienenstock et al., 1973; Dym und Romrell, 1977; Padykula und Tansey, 1979; Gossrau, 1980 a), bei der enzymhistochemischen Untersuchung der Lysosomen- und vor allem der Plasmalemmhydrolasen aber auffällige Differenzen bestehen. Sollte für Ratten zutreffen, daß nicht nur die intraepithelialen Lymphocyten im Intestinum (Gossrau, 1980 a; vgl. Lojda, 1976; Lojda et al., 1976b) sondern auch die in den Epithelien der übrigen Organe T (thymusabhängige) -Lymphocyten sind, würden verschiedene und eventuell sogar organspezifische Subpopulationen von T-Lymphocyten existieren.

Nehmen wir zu unseren Beobachtungen über die sauren Hydrolasen (vgl. auch Köhl, 1968, Lit.; Dott, 1969, Lit.; Moniem und Glover, 1972; Vogel und Goslar, 1972; Gossrau, 1977 a,b, 1979 a,b) die über die Verteilung und Aktivität der mikrovillären (stereociliären) und Golgi-Apparat-Hydrolasen (Gossrau, 1978, 1979 b) sowie über die Ultrastruktur der verschiedenen Zellen des Nebenhodenepithels (Brandes, 1974, Lit.; Hamilton, 1975, Lit.; Sun und Flickinger, 1979; Zunke und Gossrau, 1980 a,b,c) und experimentelle Daten am Rattenepididymis (Grant, 1958; Maneely, 1958; Burgos, 1964; Sedar, 1966; Friend und Farquhar, 1967; Nicander, 1970; Choi, 1975; Moore und Bed-

ford, 1979b) hinzu, resultiert ein hochdifferenziertes System aus Resorptions- und Sekretionszonen (Endo- und Exocytosezonen) mit regional unterschiedlich intensiv ablaufenden luminalen und epithelialen Hydrolyseprozessen im Nebenhodengang dieser Spezies (Gossrau, 1979 b); seine funktionellen Aspekte wurden bereits größtenteils unter Berücksichtigung relevanter Literaturangaben und der hier vorgelegten Befunde über das epitheliale und luminale Hydrolasensystem von Zunke und Gossrau (1980 c) diskutiert.

Unsere Ergebnisse haben dazu den Beitrag geliefert, daß die lysosomalen Hydrolasen in den Hauptzellen der Zone 4-7 dominieren; proximal und distal davon spielen sich durch lysosomale Glycosidasen, Proteasen, saure Lipasen (unspezifische Esterasen) und Phosphatasen bewerkstelligte Stoffwechselprozesse in geringerem Umfang ab. Eine Ausnahme machen distal die hellen Zellen vom Typ III und IV, die endocytotisch reichlicher Makromoleküle aufnehmen, z.B. Ferritin und Peroxidase (Choi, 1975; Moore und Bedford, 1979 b; vgl. Flickinger, 1972; Flickinger und Loving, 1976) als die benachbarten Hauptzellen und extrem hohe lysosomale Hydrolasenaktivitäten aufweisen (Gossrau, 1977 a,b, 1979 b).

Neben den sauren Hydrolasen in Lysosomen und ihrer Beteiligung an lysosomalen Verdauungsvorgängen, ist wahrscheinlich, daß andere saure Hydrolasen vom Epithel sezerniert werden (vgl. Davies und Allison, 1976, Lit.)

und als Ganglumenhydrolasen (Mann, 1964, Lit.; Dott und Dingle, 1968; Dott, 1969, Lit.; Jones, 1974) erscheinen, die nicht aus dem Hoden oder den Ductuli efferentes stammen oder freigesetzte Spermienhydrolasen (Morton, 1976) sind. Dafür spricht, daß diese Enzyme auch nach unilateraler Kastration weitgehend unverändert aktiv im spermafreien Nebenhodengang der operierten Seite oder nach bilateraler Kastration und Testosteronsubstitution im Lumen vorhanden sind. Umgekehrt sinkt die Aktivität der Lumenhydrolasen nach bilateraler Kastration ohne Substitution massiv ab und kann schließlich völlig fehlen; gleichzeitig verschwinden die hellen Zellen vom Typ I und II in Zone 5 und 6 des Ductus epididymidis. Vielleicht sind sie für die Produktion und Abgabe der Ganglumenhydrolasen zuständig, da alle Hydrolasen im Ganglumen (α-D-Mannosidase, saure ß-D-Galactosidase, ß-D-N-Acetylglucosaminidase, Dipeptidylpeptidase II) erstmalig in diesen Zonen darstellbar sind, gleichzeitig in den hellen Zellen vom Typ I und II vorkommen und in ihnen nicht nur in Lysosomen sondern auch in Sekretgranula lokalisiert sind, die mit dem apikalen Plasmalemm konfluieren und ekkrin sowie unmittelbar nach experimentellen Eingriffen, z.B. Kastration, eventuell apokrin sezerniert werden können (Gossrau, unveröff; vgl. Martan, 1969). Unklar bleibt, warum nur einige der in den hellen Zellen an sich vorhandenen sauren Hydrolasen nachweisbar im Ganglumen auftreten, andere aber nicht, z.B. die unspezifischen Esterasen und die ß-D-Glucuronidase.

Funktionell könnten sich die sauren Lumenhydrolasen an der Ausreifung der Spermien beteiligen (Mann, 1964, Lit.; Dott und Dingle, 1968; Jones, 1974; Paris und Brandes, 1974), das im Spermplasma vorhandene androgen-bindende Protein (ABP; Hansson et al., 1974, 1975, Lit.) abbauen oder sogar gezielt Testosteron aus dem ABP freisetzen (French und Ritzen, 1973); denn die ABP-Konzentration nimmt parallel zum Aktivitätsanstieg der Ganglumenhydrolasen im Epididymis ab (Hansson et al., 1974), und luminales Testosteron kann nur ungebunden bzw. in freier Form von den Epithelzellen aufgenommen werden (Hansson et al., 1975). Darüberhinaus ist vorstellbar, daß sich an der Testosteronfreisetzung und/oder der ABP-Degradation auch die Stereocilienproteasen und -phosphatasen der Zone 1-4 (Gossrau, 1978, 1979 b) beteiligen. Über das Schicksal der sauren Hydrolasen im Ganglumen ist ebenfalls nichts genaues bekannt; möglicherweise wird ein Teil distal von Hauptzellen und/oder hellen Zellen des Ductus deferens inkorporiert und lysosomal abgebaut oder erscheint im Ejakulat (Mann, 1964, Lit.; Morton, 1976, Lit.)

Reaktion auf Kastration, Substitution und Kryptorchismus und Regulation des Nebenhodens und seiner sauren Hydrolasen

Unsere Kastrations- und Kryptorchismusexperimente liefern nicht nur Einblick in die Regulation des Hydrola-

sensystems im Epithel und Ganglumen des Nebenhodens erwachsener Ratten sondern in die Steuerung des Nebenhodenepithels ganz generell. Vorauszuschicken ist dazu, daß bilaterale operative Kastration zu einem Testosteronmangel in Sperma (luminales Testosteron) und Blut (Serumtestosteron; totaler Androgenentzug) führt (Aafjes und Vreeburg, 1972), unilaterale Kastration nur den luminalen Testosteronspiegel (partielle Androgenentzug) reduziert und Behandlung mit Cyproteronacetat u.a. die Testosteronrezeptoren im Nebenhodenepithel blockiert (Neumann et al., 1967; Clark, 1976, Lit.; vgl. Flickinger und Loving, 1976); Kryptorchismus soll im Serum keine eindeutigen Auswirkungen auf den Testosterongehalt haben, aber den Dihydrotestosteronspiegel vermindern (Gupta et al., 1975; Jones et al., 1977). Die prinzipiell identische Reaktion des Nebenhodenepithels erwachsener Tiere nach Kryptorchismus und Kastration deutet darauf hin, daß der Androgenhaushalt auch im kryptorchiden Nebenhoden global gestört bzw. die aktuell verfügbare Androgenmenge verringert wird (Inano und Tamaok , 1968). Operative bilaterale Kastration kombiniert mit Testosterongabe verhindert den Kastrationseffekt weitgehend (Cavazos, 1958, 1975; Aafjes und Vreeburg, 1972; Gupta et al., 1974; Jones, 1974).

Verglichen mit den bisher durchgeführten einschlägigen Studien liefern unsere Experimente deshalb neue und mehr Informationen zur Regulation des Nebenhodenepithels, weil alle Zonen des Ductus epididymidis und bereits

kurze Zeit nach dem Eingriff untersucht wurde.Hierdurch gibt vorliegende Arbeit erstmals ein zusammenhängendes Bild von der Reaktion des Nebenhodenganges und seiner Zellen auf Hormonmangel bzw. von der Steuerung des Ductus epididymidis durch Androgene und möglicherweise andere Faktoren. Sämtliche Eingriffe führen zu prinzipiell gleichen, je nach Ausmaß des Androgenmangels im Detail aber differenten Veränderungen und Reaktionen am Nebenhodenepithel. Speziell seine Antwort auf bilaterale Kastration und Kryptorchismus läßt sich grobschematisch in 3 Phasen untergliedern und läuft im Ductus epididymidis in proximodistaler Richtung ab, d.h. die Reaktion tritt zuerst in Zone 1 und 2 auf und macht sich dann nacheinander in den restlichen Zonen bemerkbar; außerdem sind vor allem in Zone 1 und 2 abgerundete Zellen zu finden, die auch im Lumen erscheinen, und es kommen bevorzugt in Zone 4-7 basal im Epithel gelegene Zellen vor. Spermatiden im Lumen des Nebenhodenganges treten praktisch nur nach Kryptorchismus, Epithel ohne helle Zellen vom Typ I und II nach bilateraler oder chemischer Kastration durch Cyproteronacetat auf.

In der 1. Phase wandern nach Kryptorchismus anfänglich hydrolasennegative Spermatiden anstelle von Spermien aus dem Hoden in den Nebenhoden ein (Weiss und Gossrau, 1980) und den Gang hinunter, inkorporieren die Ganglumenhydrolasen und reagieren vorübergehend positiv. Die Spermien verschwinden in dem Maße aus dem Lumen des Nebenhodenganges wie die Spermatiden es besetzen. Die Mehrzahl der

Spermatiden beginnt nach einiger Zeit zu zerfallen. Ob auch Spermien oder Spermienbruchstücke von den Spermatiden aufgenommen werden, bleibt unklar; ebenso ist noch nicht gesichert, durch welchen Mechanismus die Lumenhydrolasen in die Spermatiden gelangen. Hier werden elektronenmikroskopische Untersuchungen Auskunft geben; ferner könnten Experimente am Nebenhoden von Meerschweinchen nach Kryptorchismus weiterhelfen, da ihre Spermien im Akrosom unspezifische Esterasen, Esterproteasen und Proteasen besitzen (Gossrau, 1977 b, 1978; Gossrau und Lojda, 1980 a), die als natürliche Tracer bei Inkorporationsstudien von Spermien in Frage kämen. Am Untergang der Spermatiden beteiligen sich eventuell neben den inkorporierten ehemaligen auch die noch nicht aufgenommenen Ganglumenhydrolasen.

Tatsache ist, daß unmittelbar nach Kryptorchismus die Spermiogenese gestört, speziell die Spermhistogenese nicht mehr regelrecht abläuft (Solival, 1954; Moniem et al., 1965; Leeson und Leeson, 1970; Jones et al., 1977), und Spermatiden in der Lage sind, Enzyme (und vielleicht ganz allgemein Makromoleküle) aufzunehmen. Diese Beobachtung war vollständig unbekannt; sie demonstriert nicht nur die potentiellen Fähigkeiten von Spermatiden, sondern gibt uns außerdem ein biologisches Modell in die Hand, mit dem grundsätzliche Phänomene der Zellbiologie, z.B. der Aufnahmemechanismus von Enzymen und deren Schicksal nach Inkorporation mit ultracytochemischen Methoden untersucht werden können; geeignete

Verfahren stehen inzwischen auch für die hier relevanten Glycosidasen und Proteasen (Gossrau, 1976 b; Gossrau et al., 1977; Gossrau, 1980 c; Schröder und Gossrau 1980) zur Verfügung. Epithelveränderungen fehlen in der 1. Phase nach Kryptorchismus weitgehend. - Die Anwesenheit von Spermatiden im Nebenhodengang nach Kryptorchismus erinnert an den Nebenhoden unmittelbar vor der Geschlechtsreife; nur ist die Situation dann umgekehrt, weil anfänglich Spermatiden im Ganglumen erscheinen, denen später Spermien folgen (Gossrau, 1977 b; Sun und Flickinger, 1979). Ursächlich dürften jedoch Umstellungen im Androgenhaushalt in beiden Fällen eine Rolle spielen.

Nach bilateraler operativer Kastration stehen Epithelveränderungen dagegen im Vordergrund. Sie betreffen hauptsächlich die Zone 1 und 2 und in geringerem Maße sowie von proximal nach distal abnehmend auch die anderen Zonen des Ductus epididymidis, und sind vermutlich die Primärreaktion des Nebenhodens auf Androgenmangel; es handelt sich um runde Zellen oder Vakuolen, die zunächst lediglich intraepithelial zwischen intakten Hauptzellen erscheinen. Kurze Zeit später findet man die gleichen Gebilde auch im Lumen; im Epithel treten an ihre Stelle mitunter Löcher. Die Zellen selbst sind untergehende bzw. sterbende Hauptzellen, die sich zwischenzeitlich zu Vakuolen umwandeln können (vgl. Cavazos, 1958). Dafür sprechen der identische Hydrolasenbestand von intakten Hauptzellen, runden Zellen und Vakuolen, vor allem aber kürzlich begonnene Semidünnschnitt- und elektronenmikroskopi-

sche Paralleluntersuchungen. Bisher haben diese Studien ergeben, daß unmittelbar nach erfolgter Kastration in bestimmten Hauptzellen der Zone 1 und 2 und vereinzelt auch in den distaleren Zonen massive autophagische Prozesse ablaufen, die Zellen sich abrunden, zu Vakuolen werden, ins Lumen übertreten und intraluminal zerfallen; oder die Zellen verbleiben im Epithel und gehen hier unter. Andere Hauptzellen, die intraepithelialen Lymphozyten, Flaschenzellen und Basalzellen zeigen zur gleichen Zeit keine eindeutigen ultrastrukturellen (Gossrau, unveröff.) und enzymatischen Veränderungen.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß im Nebenhoden von Ratten möglicherweise zwei Typen von Hauptzellen existieren, und zwar androgensensitive (androgenreaktive) und androgeninsensitive (androgennichtreaktive) bzw. Hauptzellen mit und ohne Androgenrezeptoren (vgl. Drews und Alonso-Lozano, 1974; Drews, 1975: Nebenhodenepithel von "testicular feminized mice" bzw. Tfm-Mäusen), oder sich zumindest im Rezeptorengehalt voneinander unterscheidende (Baulieu, 1976, Lit.) Hauptzellen (Hauptzellen mit mehr und Hauptzellen mit weniger Rezeptoren) vorkommen und von der Sofortreaktion nach Kastration bzw. Androgenmangel primär die androgenreaktiven und erst sekundär die androgennichtreaktiven betroffen sind. Der Androgenmangel selbst würde bei den androgensensitiven Hauptzellen zum Absterben führen. Ob hieraus weiter geschlossen werden kann, daß die Hodenandrogene das Nebenhodenepithel direkt bevorzugt über die androgensensitiven Hauptzellen

regulieren, die ihrerseits alle restlichen Epithelzellen oder einen Teil von ihnen im Nebenhoden steuern bzw. lediglich bestimmte Zellen im Nebenhoden vom Hoden beeinflußt werden, andere hingegen nicht, müssen Studien klären, mit denen wir inzwischen begonnen haben. Daß die Vorstellung einer vollständig oder partiell selektiven Beeinflussung bestimmter Nebenhodenepithelzellen durch Androgene bereits jetzt nicht ganz von der Hand zu weisen ist (vgl. Moore und Bedford, 1979 a,b), demonstrieren die hellen Zellen vom Typ III und IV, die auch bei protrahiertem und totalem Androgenentzug anders als die vom Typ I und II niemals vollständig verschwinden.

Ins Lumen übergetretene abgerundete Hauptzellen oder Vakuolen wandern wie die Spermatiden den Nebenhodengang hinunter, sind aber im Gegensatz zu ihnen nicht in der Lage, die Ganglumenhydrolasen aufzunehmen; offenbar ist die Inkorporation der Lumenhydrolasen ein vergleichsweise spezifischer Prozeß. - Der passagere Anstieg der Hydrolasenaktivität in den Hauptzellen ist allein nach Kastration, die Zunahme der Epithelhöhe überall im Nebenhodengang ist nach Kryptorchismus und Kastration zu beobachten; parallel zur vorübergehenden Aktivitätssteigerung der sauren Hydrolasen nimmt im Semidünnschnitt und im Elektronenmikroskop im Anschluß an Kastration die Zahl kleiner Lysosomen zu (Moore und Bedford, 1979 a; Gossrau, unveröff.).

In der 2. Phase geht die Aktivität der sauren Hydrolasen in den Hauptzellen und hellen Zellen zurück, und es treten sog. neue basale Zellen auf (vgl. Benoit, 1926; Maneely,

1958). Letztere sind anfänglich reich, später arm an allen sauren Hydrolasen, die für die Hauptzellen typisch sind, besitzen riesige autophagische Vakuolen (Gossrau, unveröff.; vgl. Moore und Bedford, 1979 a) und dominieren in den Zonen 4-7, die sich im normalen Nebenhoden durch Hauptzellen mit hochaktiven sauren Hydrolasen und vielen Lysosomen auszeichnen (Gossrau, 1979 b; Zunke und Gossrau, 1980 b,c; vgl. Dott, 1969, Lit.; Moniem und Glover, 1972; Brandes, 1974, Lit.). Unwahrscheinlich ist, daß die neuen basalen Zellen umgewandelte Basalzellen sind, denn Basalzellen kommen zur gleichen Zeit auch nach Kryptorchismus und Kastration vor. Wahrscheinlicher ist, daß die neuen basalen Zellen ehemalige Hauptzellen darstellen, deren Lysosomenapparat mit seinen sauren Hydrolasen ausgelöst durch den Androgenmangel und das reduzierte Stoffangebot bei gleichzeitig verminderter Endocytoserate (Gossrau, unveröff.; vgl. aber Moore und Bedford, 1979 a) nicht wie beim Normaltier überwiegend heterophagisch (Zunke und Gossrau, 1980 c) sondern vor allem autophagisch tätig ist (Moore und Bedford, 1979 a; Gossrau, unveröff.); später erschöpfen sich die Lysosomenhydrolasen und die Lysosomen selbst werden zu weitgehend hydrolasenarmen Residualkörpern.

In der 3. Phase wird der Endzustand erreicht. Die Zahl der neuen basalen Zellen nimmt ab; nach Kryptorchismus sind sie kaum noch anzutreffen. Nur nach Kastration gleichen sich schließlich die beim Normaltier zonenabhängig differierenden lysosomalen Hydrolasenaktivitäten; es entsteht eine überall im Nebenhodengang gleiche Basis-

aktivität; außerdem verschwinden bis auf die hellen Zellen vom Typ III und IV alle Typen von Epithelzellen; das Nebenhodenepithel ist ubiquitär gleich strukturiert und mehrreihig; das Ganglumen sternförmig und leer. Allerdings sind die hellen Zellen vom Typ III und IV seltener und hydrolasenärmer als beim Normaltier; vielleicht handelt es sich bei ihnen um Zellen, die relativ unabhängig von Androgenen bzw. vergleichsweise androgeninsensitiv sind (vgl. Moore und Bedford, 1979 b). Mit Ausnahme der neuen basalen Zellen und hellen Zellen im distalen Epididymis (Typ III und IV) ähnelt das Nebenhodenepithel nach Kastration lichtmikroskopisch-morphologisch und enzymhistochemisch weitgehend dem von Ratten vor der Geschlechtsreife (Gossrau, 1977 b; Sun und Flickinger, 1979).

Demgegenüber ist das Epithel des Ductus epididymidis mit seinen verschiedenen Zellen nach Kryptorchismus meistens nur vorübergehend und weniger gravierend betroffen als nach Kastration, ohne daß die Veränderungen immer voll reversibel sind. Im Anschluß an Kryptorchismus entsprechen allein die Hauptzellen überall im Nebenhodengang und die hellen Zellen vom Typ III und IV in Zone 7, 8 und 9 mit ihrem lysosomalen Hydrolasensystem letztlich wieder weitgehend denen beim Normaltier; die hellen Zellen vom Typ I und II bleiben zumindest partiell in ihrer Tätigkeit reduziert, indem bestimmte saure Hydrolasen, z.B. die unspezifischen Esterasen irreversibel an Aktivität verlieren und kaum mehr Lipidgranula im basalen Cytoplasma vorhanden sind. Vielleicht sind für die Aufrechterhal-

tung der vollen Funktionstüchtigkeit dieser Zellen die Spermien oder bestimmte Spermplasmaanteile nötig, die nach Kryptorchismus fehlen. Die mögliche Fähigkeit der hellen Zellen vom Typ I und II die Ganglumenenzyme α-D-Mannosidase, ß-D-N-Acetylglucosaminidase und saure ß-D-Galactosidase zu synthetisieren und zu sezernieren bliebe jedoch erhalten, da diese Hydrolasen nach Kryptorchismus unverändert im Lumen des Ductus epididymidis vorhanden sind und speziell ihre Aktivität in den hellen Zellen zurückgeht. Das differente Verhalten der hellen Zellen im proximalen (Typ I und II) und distalen (Typ III und IV) Abschnitt des Nebenhodenganges gegenüber experimentellen Eingriffen läßt daran denken, daß sie unterschiedlich reguliert werden und deutet außerdem darauf hin, daß es sich bei den von Zunke und Gossrau (1980 b,c) beschriebenen hellen Zellen vom Typ I und II einerseits und vom Typ III und IV andererseits vermutlich nur um zwei Typen heller Zellen handelt, soweit ihre Regulation betroffen ist. Daß die Veränderungen am Nebenhodenepithel nach Kryptorchismus größtenteils reversibel sind, kann verschiedene Ursachen haben. Vorstellbar wäre, daß Kryptorchismus lediglich zu passagerem Androgenmangel führt bzw. die Leydigzellen des Hodens nach einer gewissen Adaptationszeit wieder normale Mengen an Androgenen produzieren; die Spermiogenese bleibt dagegen gestört und sistiert (Jones et al., 1977).

Vergleicht man die einzelnen Eingriffe untereinander, werden die Veränderungen am Nebenhodenepithel nach bilateraler Kastration durch Androgenmangel im Lumen und Blut ausgelöst und unterhalten. Unauffälligere Reaktionen

löst unilaterale Kastration aus, nach der Androgene vermutlich nur im Ganglumen fehlen oder wenigstens vermindert sind; für ein ausreichendes Angebot im Blut des Nebenhodens auf der kastrierten Seite dürfte der andere intakte Hoden sorgen. Umgekehrt verhindern bilaterale Kastration und Testosteronsubstitution (Vgl. Benoit, 1926; Allen und Slater, 1957, 1958; Cavazos, 1958; Allen und Hunter, 1960; Risley und Skrepetos, 1964; Aafjes und Vreeburg, 1972; Jehan et al., 1973; Jones, 1974), d.h. Beeinflussung des Nebenhodens allein von der Blutseite her mit Ausnahme einiger runder und neuer basaler Zellen praktisch alle geschilderten Kastrationsveränderungen. Aus den Substitutionsexperimenten kann geschlossen werden, daß Blutandrogene weitgehend ausreichen, um die normale Struktur des Nebenhodenepithels mit seinen verschiedenen Zelltypen und deren Hydrolasensystem sowie das im Ganglumen aufrecht zu erhalten. Dies wirft die Frage nach der funktionellen Bedeutung der Lumenandrogene im Nebenhoden auf. Keines unserer Experimente gibt darauf eine klare Antwort; auch die Gabe von Cyproteronacetat, das u.a. die Androgenrezeptoren im Nebenhoden bzw. in den Zellen des Epididymis blockiert (Neumann et al., 1967; Clark, 1976, Lit.) und dadurch den Androgeneffekt verhindert, hilft hier nicht weiter, weil die Wirkung der Lumen- und Serumandrogene in gleicher Weise unterbunden ist. Vielleicht wird das luminale Testosteron und Dihydrotestosteron für die Ausreifung der Spermien benötigt; denn Androgenmangel im Spermplasma reduziert die Befruchtungsfähigkeit der Spermien (Orgebin-Crist und Tichenor, 1973; Orgebin-Crist et al., 1975; vgl. Jehan et al., 1973). Darüber hinaus weisen die nach einseitiger Hodenentfernung

doch vorhandenen Veränderungen darauf hin, daß neben den Serum- auch die Lumenandrogene die normale Struktur und ungestörte Tätigkeit des Nebenhodenepithels mit aufrecht erhalten (vgl. Flickinger, 1977; Sun und Flickinger, 1979). Unbeantwortet läßt unsere Studie, ob Sekretions- und Resorptionsvorgänge (Exo- und Endocytose) im Nebenhodenepithel in gleichem Ausmaß von Androgenen beeinflußt werden oder nicht, und durch welche Stoffwechselschritte im einzelnen die eingeschränkte oder sogar aufgehobene Funktion der Nebenhodenepithelzellen bewirkt wird. Untersuchungen von Moore und Bedford (1979 b) haben Hinweise erbracht, daß zumindest in den Hauptzellen speziell die Resorption durch Androgenmangel beeinflußt wird; und zwar soll Kastration die Endocytoserate erhöhen; nach unseren bisher vorliegenden eigenen Befunden trifft eher das Gegenteil zu (Gossrau, unveröff.).

Inwieweit die intraepithelialen Lymphocyten in all diese Prozesse miteinbezogen sind und eventuell von Androgenen reguliert werden, untersuchen wir momentan im Elektronenmikroskop. Für das Genitalepithel weiblicher Ratten ist eine Abhängigkeit der intraepithelialen Lymphocyten von Geschlechtshormonen bereits bekannt (Padykula und Tansey, 1979; vgl. Geppert et al., 1977; van Bogaert et al., 1978; Mensch).

Unsere Beobachtungen, daß Testosteronsubstitution bevorzugt im Epithel des proximalen Nebenhodenganges (Zone 1-5) den Kastrationseffekt aufhebt, läßt sich damit erklären,

daß distal (Zone 6-10) vor allem Dihydrotestosteron benötigt wird, um die normale Nebenhodenfunktion zu gewährleisten. Demgegenüber genügt dazu im proximalen Nebenhodenepithel Testosteron, weil es durch eine hier in vergleichsweise hoher Aktivität lokalisierte 5α-Reduktase in das wirksamere Dihydrotestosteron übergeführt werden kann; im Epithel des distalen Nebenhodenganges ist dieses Enzym weniger aktiv als proximal (Vreeburg und Scholte, 1973; Gupta et al., 1975; Orgebin-Crist et al., 1975; Hofman et al., 1976).

Zusammengenommen ergibt unsere Untersuchung, daß in Epithel und Ganglumen des Nebenhodens ein hochkomplexes System aus sauren Hydrolasen existiert; im Epithel ist es größtenteils in Lysosomen und vermutlich Sekretgranula untergebracht; im Ganglumen sind die sauren Hydrolasen im Spermplasma gelöst. Epitheliales und luminales Hydrolasensystem hängen eng zusammen und beteiligen sich beide auf im einzelnen noch weitgehend ungeklärte aber sicher unterschiedliche Weise an der Spermienreifung. Die Erhaltung der zonen- und zelldifferenten Normalstruktur und die Regulation des Nebenhodenepithels und seiner sauren Hydrolasen erfolgt vor allem durch die Blutandrogene; zusammen mit den Lumenandrogenen gewährleisten sie ihre volle Leistungsfähigkeit; im Detail ist die Rolle der Lumenandrogene jedoch offen. Möglicherweise wird direkt durch Androgene nur eine spezielle Population von Hauptzellen (androgensensitive) reguliert; bei der Steuerung der restlichen Zellen des Nebenhodenepithels oder wenigstens einem Teil von ihnen könnte es sich um Sekundäreffekte (androgeninsensitive Zellen) handeln.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit qualitativ-histochemischen Methoden werden die sauren Hydrolasen (saure Phosphatase, sP; ß-D-N-Acetylglucosaminidase, NAG; saure ß-D-Galactosidase, sß-Gal; α-D-Mannosidase, α-Man; α-D-Galactosidase, α-Gal; ß-D-Glucuronidase, ß-Gluc; unspezifische Esterasen, uE; Dipeptidylpeptidase I, DPP I und Dipeptidylpeptidase II, DPP II) in Epithel und Lumen der verschiedenen Zonen des normalen Nebenhodenganges von Ratten untersucht; Einblick in die Regulation der sauren Hydrolasen und des Nebenhodenepithels ganz generell durch Hodenandrogene (und vermutlich andere Faktoren) liefern Experimente (operative und chemische Kastration mit und ohne Testosteronsubstitution sowie Kryptorchismus). Um besonders aussagekräftige Resultate zu erhalten, wurden möglichst viele Reaktionsprinzipien (Azo-, Azoindoxyl-, Metallsalz-, Indigogenverfahren) und verschiedene Substrate zum Nachweis ein und derselben Hydrolase eingesetzt.

Die Hauptzellen (Hz), hellen Zellen (hZ) und Flaschenzellen (Fz) besitzen alle nachgewiesenen Hydrolasen, die Basalzellen (Bz) nur uE bei Verwendung von 1-Naphthylacetat als Substrat. Unterschiedlich verhalten sich in den Hz, die überall im Epithel des Ductus epididymidis auftreten, in den jeweiligen Zonen die intrazelluläre Lokalisation und Menge des Reaktionsproduktes; relativ arm an sauren Hydrolasen sind die Hz der Zone 1-3, hydrolasenreich die der Zone 4-7; die Hydrolasenaktivität der Hz in Zone 8,9

und 10 ist höher als in Zone 1-3, aber etwas niedriger als in Zone 4-7. Im apikalen Cytoplasma der Fz sind vor allem die DPP II, NAG, sß-Gal, uE und α-Man hochaktiv; die Fz kommen nur in Zone 1 und 2 vor. Die hZ vom Typ I und II besitzen gleichfalls im apikalen Cytoplasma speziell eine hochaktive uE, DPP II, NAG, sß-Gal und ß-Gluc; die vom Typ III und IV in Zone 7-9 überall im Cytoplasma hohe Aktivitäten an sämtlichen dargestellten Hydrolasen. uE-positive Bz sind praktisch erst ab Zone 3 anzutreffen und nehmen distalwärts an Zahl zu; proximal davon ist in den Bz keines der anderen untersuchten Enzyme vorhanden. - Intraepitheliale Lymphocyten (iL) verfügen insbesondere über uE, ß-Gluc und DPP I. Als Ganglumenhydrolasen treten die NAG, sß-Gal, α-Man und DPP II auf; ab Zone 8 sinkt ihre Aktivität ab.

Alle experimentellen Eingriffe führen im Nebenhoden zu einem passageren oder endgültigen Mangel an Serum- und/ oder Lumenandrogenen und rufen eine Reaktion des Nebenhodenepithels in proximodistaler Richtung hervor, die sich etwas schematisch in 3 Phasen untergliedern läßt. In der 1. Phase stehen nach bilateraler operativer oder chemischer Kastration Epithelveränderungen im Mittelpunkt: überwiegend in Zone 1 und 2 rundet sich nur ein bestimmter Typ von Hz (rZ) ab, verläßt den Epithelverband bzw. tritt ins Lumen über und "wandert" den Ductus epididymidis hinunter ohne die Ganglumenhydrolasen zu inkorporieren und zerfällt; oder die rZ verbleiben im Epithel und gehen hier unter. Nach Kryptorchismus domi-

nieren Spermatiden im Nebenhodengang, "wandern" ihn ebenfalls hinunter, inkorporieren die Ganglumenhydrolasen und zerfallen in seinem Lumen oder verschwinden im Ductus deferens. In der 2. Phase geht die Aktivität der sauren Hydrolasen in sämtlichen Epithelzelltypen, besonders nach Kastration zurück, und vor allem in Zone 4-7 treten sog. neue basale Zellen (nbz) auf; sie sind anfänglich extrem reich an sauren Hydrolasen, lassen sich aufgrund ihres differenten Hydrolasenmusters in 5 Typen untergliedern und sind offenbar umgewandelte und überwiegend autophagisch tätige Hz. In der 3. Phase wird der Endzustand erreicht. Nach Kastration verschwinden mit Ausnahme der hZ vom Typ III und IV die zonen- und zellspezifischen Hydrolasenaktivitäten; das Nebenhodenepithel erscheint ubiquitär gleich strukturiert und mehrreihig und ist höher als bei Normaltieren; seine Hydrolasen besitzen eine überall identische Basisaktivität. Demgegenüber normalisiert sich die Epithelsituation nach Kryptorchismus weitgehend; nur die uE-Aktivität der hZ vom Typ I und II bleibt vermindert. Die Zahl der nbz geht nach Kryptorchismus stärker als nach Kastration zurück.

Verglichen mit bilateraler operativer und chemischer Kastration treten nach unilateraler operativer Kastration weniger nbz und rZ und kaum Veränderungen der sauren Hydrolasen in Epithel und Lumen auf; noch weniger ändern sich diese Enzyme nach bilateraler operativer Kastration und Substitution durch Testosteron.

Aus den Befunden wird geschlossen, daß vor allem die Serumandrogene, aber auch die Lumenandrogene durch lokal unterschiedliche sowie zell- und hydrolasenspezifische Effekte das Nebenhodenepithel regulieren. Möglicherweise sind darüberhinaus nur bestimmte Hauptzellen androgensensitiv und werden durch Androgene beeinflußt; die restlichen könnten hingegen androgeninsensitiv sein und über andere, noch unbekannte Mechanismen gesteuert werden. Die Ganglumenhydrolasen werden selektiv von Nebenhodenepithelzellen sezerniert; vielleicht sind dafür die hZ vom Typ I und II verantwortlich.

LITERATUR

Aafjes, J.H., Vreeburg, J.H.M.: Distribution of 5∝-dihydrotestosteron in the epididymis of bull and boar, and its concentration in rat epididymis after ligation of efferent testicular ducts, castration and unilateral gonadectomy. J. Endocr. 53, 85-93 (1972).

Allen, J.M., Hunter, R.L.: A histochemical study of enzymes in the epididymis of normal castrated and hormone replaced castrated mice seperated by zone electrophoresis in starch gels. J. Histochem. Cytochem. 8, 50-57 (1960)

Allen, J.M., Slater, J.J.: A chemical and histochemical study of alkaline phosphatase and aliesterase in the epididymis of normal and castrated mice. Anat. Rec. 129, 255-274 (1957).

Allen, J.M., Slater, J.J.: A chemical and histochemical study of acid phosphatase in the epididymis of normal, castrated and hormone replaced castrated mice. Anat. Rec.130, 731-745 (1958).

Baulieu, E.-E.: Intracellular receptors and hormone antagonists. In: Hormone and antihormone action at the target cell (Clark, J.H., Klee, W., Levitzki, A., Wolff, J., eds.), pp. 51-78. Life Sciences Research Report 3, Berlin, Abakon 1976.

Benoit, J.: Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétices du testicule chez les mammiferes. Arch. Anat. Histol Embryol. 5, 175-382 (1926).

Bienenstock, J., Johnston, N., Percy, D.Y.E.: Bronchial lymphoid tissue. I. Morphologic characteristics. Lab. Invest. 28, 686-692 (1973).

Böcking, A., Hansert, J., Deimling. O.v.: Esterase XXII. Cellular and subcellular localisation of the Es-9 esterase in mouse kidney . Histochemistry 46, 177-188 (1976).

Bogaert, L.-J. van, Maldague, P., Staquet, J.P.: The percentage of granulocyte-like cells in human oviduct epithelium. Brit. J. Obstet. Gyn. 85, 373-375 (1978).

Brandes, D.: Fine structure and cytochemistry of male sex organs. In: Male accessory sex organs. Structure and function in mammals (Brandes, D., ed.), pp. 17-113. New York San Francisco London, Academic Press 1974.

Burgos, M.H.: Uptake of colloidal particles by cells of the caput epididymidis. Anat. Rec. 148, 517-525 (1964).

Cavazos, L.F.: Effects of testosterone propionate on histochemical reactions of epithelium of rat ductus epididymidis. Anat. Rec. 132, 209-227 (1958).

Cavazos, L.F.: Fine structure and functional correlates of male accessory glands of the rodent. In: American handbook of physiology, Vol 5, Endocrinology. Section 7. Male reproductive system. (Hamilton, D.W., Greep, R.O., eds.), pp. 353-381. Am. Physiol. Soc., Bethesda 1975.

Choi, J.K.: Ferritin absorption by light cells of canal epithelium in rat epididymis. Proc. 10th Internat. Congr. Anat., p. 450. Tokyo 1975.

Clark, J., Baulieu, E.-E., Baxter, J. D., Crombrugghe, B. de, Jorgenson, E.C., Katzenellenbogen, B. S., Katzenellenbogen, J.A., Luebke, K., Moran, J., Rochefort, H.M., Sherman, M.R., Töpert, M.: Intracellular receptors. Group report. In: Hormone and antihormone action at the target cell. (Clark, J.H., Klee, W., Levitzki, A., Wolf, J., eds.), pp. 147-169. Research Report 3. Berlin, Abakon 1976.

Conchie, J., Findlay, J.: Influence of gonadectomy on sex hormones and other factors on the activity of certain glycosidases in the rat and mouse. J. Endocr. 18, 132-146 (1959).

Conchie, J., Hay, A.J.: Mammalian glycosidases. 2. Properties of α-mannosidase and ß-galactosidase from rat epididymis. Biochem. J. 73, 327-334 (1957).

Conchie, J., Findlay, J., Levy, G.A.: Mammalian glycosidases. Distribution on the body. Biochem. J. 71, 318-325 (1959).

Davies, P., Allison, A.C.: The secretion of lysosomal enzymes. In: Lysosomes in biology and pathology, Vol. 5 (Dingle, J.T., Dean, R.T., eds.), pp. 61-93. Amsterdam Oxford, North-Holland 1976.

Deimling, O.v., Böcking, A.: Esterases in histochemistry and ultracytochemistry. J. Histochem. 8, 215-252 (1976).

Dott, H.M.: Lysosomes and lysosomal enzymes in the reproductive tract. In: Lysosomes in biology and pathology, Vol. 1 (Dingle, J.T., Fell. H.B., eds.), pp. 330-360. Amsterdam London, North-Holland 1969.

Dott, H.M., Dingle, J.T.: Distribution of lysosomal enzymes in the spermatozoa and cytoplasmic droplets of bull and ram. Exp. Cell Res. 52, 523-540 (1968).

Drews, U.: Direct and mediated effects of testosterone: The development of intersexes in sex reversed mosaic mice, heterozygous for testicular feminisation. Anat. Embryol. 146, 325-340 (1975).

Drews, U., Alonso-Lozyano, V.: X-inactivation pattern in the epididymis of ex-reversed mice heterozygous for testicular feminisation. J. Embryol. Exp. Morphol. 32, 217-225 (1974).

Dym, M., Romrell, L.J.: Intraepithelial lymphocytes in the male reproductive tract of rats and rhesus monkeys. J. Re-

prod. Fert. 42, 1-7 (1977).

Dyson, A.L.M.B., Orgebin-Crist, M.C.: Effect of hypophysectomy castration and androgen replacement upon the fertilyzing ability of rat epididymal spermatozoa. Endocr. 93, 391-402 (1973).

Flickinger, C.J.: Alterations in the fine structure of the rat epididymidis after vasectomy. Anat. Rec. 173, 277-300 (1972).

Flickinger, C.J.: The influence of progestin and androgen on the fine structure of the male reproductive tract of the rat. II. Epididymis and sex accessory glands. Anat. Rec. 187, 431-462 (1977).

Flickinger, C.J., Lovings, C.K.: Fine structure of the testis and epididymis of rats treated with cyproterone acetate. Am. J. Anat. 146, 359-383 (1976).

French, F.S., Ritzen, C.M.: A high affinity androgen binding protein in rat testis: evidence for secretion into efferent duct fluid and absorption by epididymis, Endocr. 93, 88-93 (1973).

Friend, D., Farquhar, M.G.: Functions of coated vesicles during protein absorption in the rat vas deferens. J. Cell Biol. 35, 257-276 (1967).

Geppert, M., Geppert, J., Bohle, A.: On the lympho-epithelial relationsships in the human oviduct. Virchows Arch. A. Path. Anat. Histol. 373, 133-142 (1977).

Glover, T.D., Suzuki, F., Racey, P.A.: The role of epididymal cells in sperm survival. In: Functional anatomy of the spermatozoon (Afzeltius, B.A., ed.), pp. 359-371. Pergamon, Oxford New York 1975.

Gossrau, R.: Localisation of glycosidases with naphthyl substrates. Histochem. J. 8, 271-282 (1976 a).

Gossrau, R.: Azoindoxyl methods for the demonstration of hydrolases. Proc. 5th Internat. Congr. Histochem. Cytochem. pp. 134-135, Bucharest 1976 b.

Gossrau, R.: Lysosomes and lysosomal enzymes in the epididymis of laboratory rodents. J. Anat. 124, 489 (1977 a).

Gossrau, R.: Über die postnatale Entwicklung des Nebenhodens. Histochemische und biochemische Untersuchungen von Hydrolasen. Verh. Anat. Ges. 71, 543-547 (1977 b).

Gossrau, R.: Zur Verteilung der Sterocilienenzyme im Nebenhodengang von Ratten. Histochemistry 57, 145-159 (1978).

Gossrau, R.: Zur Morphologie und Histochemie der hellen Zellen im Nebenhodengang von Ratten. Verh. Anat. Ges. 73, 705-709 (1979 b).

Gossrau, R.: Funktionszonen im Nebenhodengang von Ratten. Verh. Anat. Ges. 73, 719-725 (1979 b).

Gossrau, R.: Epithelial lymphocytes in the epididymis and intestine. Folia Morph. (Prague) 28, 123-126 (1980 a).

Gossrau, R.: Zur Eignung verschiedener Diazoniumsalze für histochemische Peptidasenuntersuchungen. Acta histochem. (Jena) Suppl. 21, 229-235 (1980 b).

Gossrau, R.: Investigation of proteinases in the digestive tract using 4-methoxy-2-naphthylamine (MNA) substrates. J. Histochem. Cytochem. (1980 c, im Druck).

Gossrau, R., Eschenfelder, V., Brossmer, R.: 5-Brom-3-indolyl-α-ketoside of 5-N-acetyl-D-neuraminic acid a new substrate for the light and electron microcopic demonstration of mammalian neuraminidase. Histochemistry 53, 189-192 (1977).

Gossrau, R., Lojda, Z.: Study on dipeptidylaminopeptidase II (DAP II). Histochemistry 70, (1980 a, im Druck).

Gossrau, R., Lojda, Z.: Study on dipeptidylaminopeptidase I (DAP I). (1980 b, in Vorb.)

Grant, J.H.: The passage of trypan blue through the epididymis and its uptake by this organ. Proc. Soc. Study Fert. 10, 95-101 (1958).

Greene, E.C.: Anatomy of the rat. Trans. Am. Phil. Soc. 27, 1-370 (1935).

Gupta, G., Rajylakshmi, M., Prasad, M.R.N.: Regional differences in androgen thresholds of the epidiymis of the castrated rat. Steroids 24, 575-586 (1974).

Gupta, G., Zarzycki, J., Rager, K.: Plasma testosterone and dihydrotestosterone in male rats during sexual maturation and following orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism. Steroids 25, 33-42 (1975).

Hamilton, D.W.: Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens in the rat. In: Handbook of physiology, Vol. 5, Endocrinology, Section 7. Male reproductive system (Hamilton, D.W., Greep, R.O., eds.), pp. 259-301. Am. Physiol. Soc., Bethesda 1975.

Hansson, V., Trygstad, O., French, F.S., McLean, W.S., Smith A.A., Tindall, D.J., Weddington, S.C., Petrusz, P., Nayfeh, S.N., Ritzen, E.M.: Androgen transport and receptor mechanisms in testis and epidiymidis. Nature 250, 387-391 (1974).

Hansson, V., Ritzen, E.M., French, F.S., Nayfeh, S.N.: Androgentransport and receptor mechanisms in testis and epididymis. In: Handbook of physiology, Vol. 5, Endocrinology. Section 7. Male reproductive system (Hamilton,

D.W., Greep, R.O., eds.), pp. 173-201. Am. Physiol. Soc., Bethesda 1975.

Hartmann, K., Gossrau, R.: Die postnatale Entwicklung des Dünndarmepithels beim Meerschweinchen. Progr. Histochem. Cytochem. 11, Heft 2 (1978).

Hoffer, A.P., Hamilton, D.W., Fawcett, D.W.: The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. Anat. Rec. 175, 169-202 (1973).

Hoffman, L.H., Jahad, N., Orgebin-Crist, M.C.: The effects of testosterone, 5α-dihydrotestosterone, 3α-androstanediol and 3ß-androstanediol on epithelial fine structure of the rabbit epididymis in organ culture. Cell Tiss. Res. 167, 493-514 (1976).

Holstein, A.F.: Morphologische Studien am Nebenhoden des Menschen. Zwangl. Abh. norm. path. Anat. H. 20. Stuttgart, Thieme 1969 .

Inano, H., Tamaok, I.B.: Effect of experimental bilateral cryptorchidism on testicular enzymes related to androgen formation. Endocrinology 83, 1074 (1968).

Jehan, Q., Setty, B.S., Kar, A.B.: Studies on physiology and biochemistry of mammalian epididymis: effect of castration and steroid hormone replacement on sperm survi-

val in rat epididymis. Indian. J. Exp. Biol. 11, 270-273 (1973).

Jones, R.: Absorption and secretion in the cauda epididymidis of the rabbit and the effect of degenerating spermatozoa on epididymal plasma after castration. J. Endocr. 63, 157-164 (1974)

Jones, T.M., Anderson, W., Fang, V.S., Landau, R.L., Rosenfield, L.: Experimental cryptorchidism in adult male rats: Histological and hormonal sequalae. Anat. Rec. 139, 1-23 (1977).

Köhl, W.: Lipofuszin und Lysosomen im menschlichen Nebenhoden. Histochemie 16, 236-286 (1968).

Kumar, T.C.A., Prakash, A., Prasad, M.R.N.: Ultrastructure of the clear cell lining the epididymal lumen of the rat. Anat. Anz. 147, 220-230 (1980).

Leeson, T.S., Leeson, C.R.: Experimental cryptorchidism in the rat. Invest. Urol. 8, 127-144 (1970).

Lojda, Z.: Cytochemical investigation of epithelial lymphocytes of the human jejunum (in Tschech.). Sb. Lek. 78, 263-268 (1976).

Lojda, Z., Gossrau, R., Schiebler, T.H.: Enzymhistochemische Methoden. Berlin Heidelberg New York, Springer 1976 a.

Lojda, Z., Gossrau, R., Schiebler, T.H.: Enzymhistochemistry. A laboratory manual. Berlin Heidelberg New York, Springer 1979.

Lojda, Z., Havránková, E., Fric, P., Jodl, J.: Epithelial lymphocytes and plasmocytes of human jejunum mucous membrane in malabsorption syndrome (in Tschech.) Sb. Lek. 78, 324-333 (1976 b).

Mancini, R.E., Rosenberg, E., Cullan, M., Lavieri, J.C., Vilar, O., Bergada, C., Andrada, J.A.: Cryptorchid and scrotal human testis. I. Cytological, cytochemical and quantitative studies. J. clin. Endocr. 25, 927-942 (1965).

Maneely, R.B.: The effect of bilateral gonadectomy on the histology and histochemistry of the surviving epididymidis of the rat. Acta anat. 32, 361-380 (1958).

Mann, T.: The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. London, Bethnen 1964.

Martan, J.: Epididymal histochemistry and physiology. Biol. Reprod. 1, 134-154 (1969).

Martan, J., Risley, P.L.: The epididymis of mated and unmated rats. J. Morph. 113, 1-16 (1963).

McDonald, J.K., Callahan, P.X., Ellis, S., Smith, R.E.: Polypeptide degradation by dipeptidylaminopeptidase I (cathepsin C and related peptidases. In: Tissue proteinases, (Barrett, A.J., Dingle, J.T., eds), pp. 69-107,

Amsterdam New York Oxford, North-Holland 1977.

Moniem, H.D.M., Bedford, J.M.: Short-term effects of androgen withdrawal on the structure of different epithelial cells in the rat epididymis. Anat. Rec. 193, 293-312 (1979 a).

Moore, H.D.M., Bedford, J.M.: The differential absorptive activity of epithelial cells of the rat epididymis before and after castration. Anat. Rec. 193, 313-326 (1979 b).

Morton, D.B.: Lysosomal enzymes in mammalian spermatozoa. In: Lysosomes in Biology and pathology, Vol. 5, (Dingle, J.T., Dean R.T., eds.), pp. 203-255. Amsterdam Oxford, North- Holland 1976.

Neumann, F., Elger, W., Berswordt-Wallrabe, R.v.: Intersexualität männlicher Feten und Hemmung androgenabhängiger Funktionen bei erwachsenen Tieren durch Testosteronblocker. Dt. med. Wschr. 8, 360-366 (1967).

Nicander, L.: On the morphological evidence of secretion and absorption in the epididymis. In: Morphological aspects of andrology, Vol. 1, (Holstein, A.F., Horstmann, E., eds.) pp. 121, 124, Berlin, Grosse 1970.

Nikkanen, V., Vanha-Perttula, T.: Acid phosphatases of the rat epididymis. 1. Fractionation, substrate specifity and partial purification. Andrologia 8, 341-350 (1976).

Nikkanen, V., Vanha-Perttula, T.: Acid phophatases of the rat epididymis. 2. Biochemical characteristics, subcellular distribution and histochemical localisation. Andrologia 9, 115-132 (1977).

Orgebin-Crist, M.C., Danzy, B.J., Davies, J.: Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis. In: Handbook of physiology. Vol. 5. Section 7. Endocrinology. Male reproductive system (Hamilton, D.W., Greep, R.O., eds.) pp. 319-338, Am. Physiol. Soc., Bethesda 1975.

Orgebin-Crist, M.C., Tichenor, P.: Effect of testosterone on sperm maturation in vitro. Nature 245, 328-329 (1973).

Padykula, H.A., Tansey, T.R.: The occurence of uterine stromal and intraepithelial monocytes and heterophils during normal late pregnacy in the rat. Anat. Rec. 193, 329-356 (1979).

Paris, J.E., Brandes, D.: Lysosomal enzymes: Their role in secretion, involution, and other processes in male sex accessory organs. In: Male accessory sex organs. Structure and function in mammals (Brandes, D., ed.), pp. 223-238, New York San Francisco London, Academic Press 1974.

Patrick, A.D., Lake, B.D.: Deficiency of an acid lipase in Wolman's disease. Nature 222, 1067-1068 (1969).

Pearse, A.G.E.: Histochemistry, Theoretical and applied. Vol. 1, London, Churchill 1968.

Pearse, A.G.E.: Histochemistry, Theoretical and applied. Vol 2. London, Churchill 1972.

Pearse, A.G.E.: Histochemistry, Theoretical and applied. Vol. 1. Preparative and optical technology. Edinburgh London New York, Churchill 1980.

Reid, B.L., Cleland, K.W.: The structure and function of the epididymis. 1. The histology of the rat epididymis. Aust. J. Zool. 5, 223-246 (1957).

Risley, P.L., Skrepetos, C.N.: Cholinesterase distributions in the rat epididymis and vas deferens after castration and sex hormone treatments. Anat. Rec. 150, 195-208 (1964).

Romeis, B.: Mikroskopische Technik. Oldenburg, München 1968.

Schröder, J., Gossrau, R.: Ultracytochemischer Proteasennachweis mit hexazotiertem Neufuchsin. Acta histochem. (Jena) Suppl 26 (1980, im Druck).

Strauß, E., Gossrau, R.: Histochemische und biochemische Untersuchungen von Hydrolasen im Meerschweinchendünndarm während der Entwicklung. Anat. Anz. 147, 496 (1980).

Sun, E.L., Flickinger, C.J.: Development of cell types and of regional differences in the postnatal rat epididymis. Am. J. Anat. 154, 27-56 (1979).

Tagliani, L., Pinca, A.: Modification of epididymis in albino rat (in ital.). Boll.Soc. Ital. Biol. Sper. 31, 646-649 (1955).

Toner, P.G., Ferguson, A.: Intraepithelial cells in human intestinal mucosa. J. Ultrastruct. Res. 34, 329-344 (1971).

Vogel, J.: Zur Differenzierung der Esterasen in den Epithelzellen des Nebenhodens der Ratte. Acta histochem. (Jena) 26, 64-74 (1967).

Vogel, J., Goslar, H.G.: Histochemische Untersuchung zur zonalen Enzymverteilung im Nebenhodenepithel der Ratte. Acta histochem. (Jena) 44, 185-195 (1972).

Vreeburg, J.T.M., Scholte, H.R.: Localisation of 5α-steroid reductase in the epididymis of the rat. Acta Endocr. Suppl. 177, 67 (1973).

Weiss, D., Gossrau, R.: Experimentelle Untersuchungen am Nebenhodengang von Ratten. Anat. Anz 147, 502 (1980).

Zunke, U., Gossrau, R.: Zum Problem der apikalen Zellen im Nebenhodengang von Ratten. Verh. Anat. Ges. 74 (1980 a, im Druck).

Zunke, U., Gossrau, R.: Zur Morphologie und Zonengliederung des Nebenhodenganges der Ratte. 1. Semidünnschnittuntersuchungen. Anat. Anz. (1980 b, im Druck).

Zunke, U., Gossrau, R.: Zur Morphologie und Zonengliederung des Nebenhodenganges der Ratte. 2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen. Anat. Anz. (1980 c, im Druck).

Tab. 1. Hydrolasenaktivitäten nach Formaldehydfixation und bei Nachweis mit Azokupplungsmethoden in den Hauptzellen des Nebenhodenepithels beim Normaltier (Nt) und 14 Tage nach Kryptorchismus (Kr) und Kastration (Ka).

Zone	saure Phosphatase			unspezifische Esterasen			ß-D-Glucuronidase			ß-D-N-Acetyl-glucosaminidase		
	Nt	Kr	Ka	Nt	Kr	Ka	Nt	Xr	Ka	Nt	Kr	Ka
1	+	+	+	++	+	+	++	+	+	++	++	+
2	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	++
3	++	++	+	++	++	+	+	+	-	++	++	+
4	++	++	+	++	++	+	+	+	-	++	++	+
5	+++	++	+	++	++	++	++	++	+	+++	++	+
6	+++	++	+	++	++	++	++	+	+	++++	+++	+
7 a	++++	+++	++	++	++	++	++	+	+	+++++	+++	++
7 b	++++	+++	++	+++++	++++	+++	+++	++	+	+++++	+++	+++
8	++	++	++	+++++	++++	+++	++	++	+	+++	+++	++
9	+	+	+	+++	+++	+++	+	+	+	++	++	+

Tab. 2. Hydrolasenaktivitäten nach Formaldehydfixation und bei Nachweis mit Azokupplungsmethoden in den Hauptzellen des Nebenhodenepithels beim Normaltier (Nt) und 14 Tage nach Kryptorchismus (Kr) und Kastration (Ka).

Zone	α-D-Mannosidase			α-D-Galactosidase			β-D-Galactosidase			Dipeptidyl-peptidase I	Dipeptidyl-peptidase II
	Nt	Kr	Ka	Nt	Kr	Ka	Nt	Kr	Ka	Nt	Nt
1	++	++	+	+	+	+	+	+	+	++	++
2	+++	++	+	++	+	+	++	++	++	+++	++++
3	+	+	-	+	+	-	+	+	+	++	++
4	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	++
5	+	-	-	+	+	-	+	+	+	++	+++
6	+++	++	-	+	+	-	+	+	+	++	++++
7 a	+++	++	-	+	-	-	+	+	+	++	+++++
7 b	+++	++	-	+	+	-	+	+	+	+++	+++++
8	++	++	+	+	+	+	++	++	++	++	+++
9	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	++

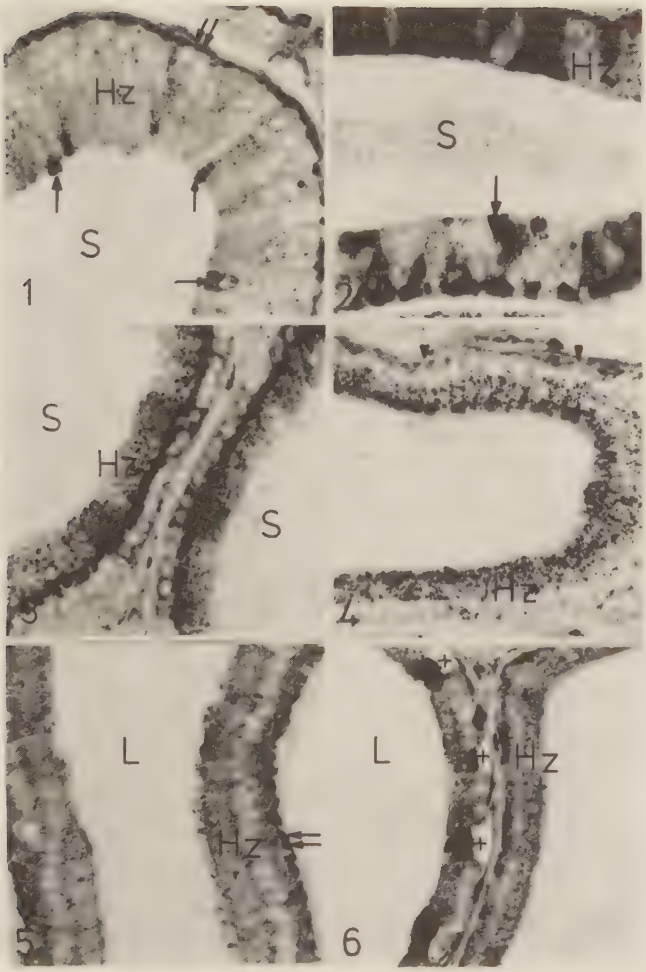

Abb. 1-6. Glutaraldehydfixation, Nachweis der unspezifischen Esterasen mit 1-Naphthylacetat als Substrat. Hz= Hauptzellen, Pfeile=Flaschenzellen, Doppelpfeile=Basalzellen, +=helle Zellen, L=Lumen, Pfeilköpfe=glatte Muskulatur, S=Spermien, 1,2. Zone 1. 3. Zone 2. 4. Zone 3. 5. Zone 4. 6. Zone 5. Objektiv 25x.

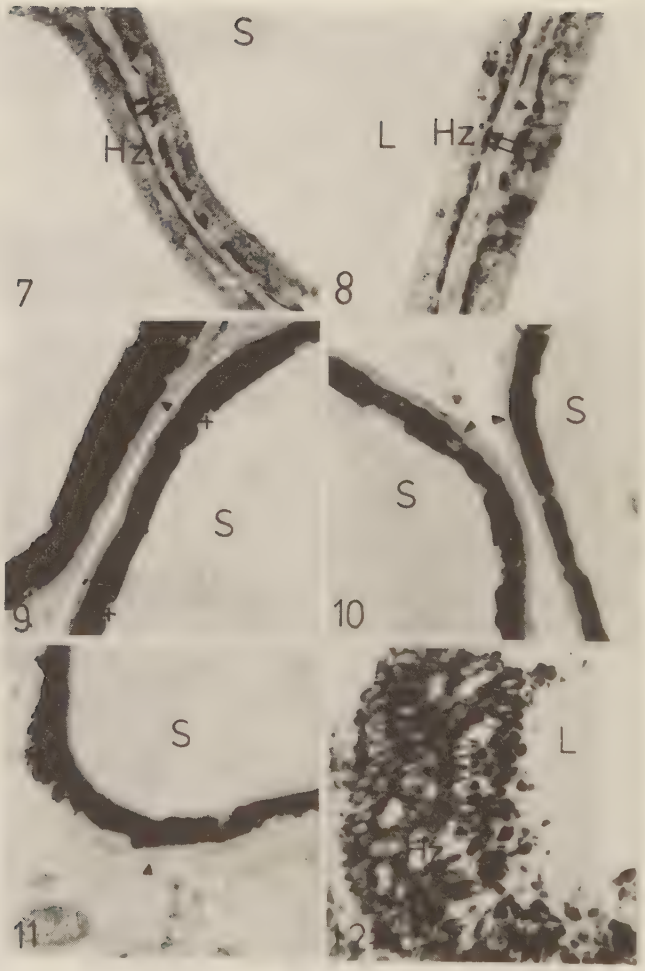

Abb. 7-12. s. Abb. 1-6, 7. Zone 6. 8,9. Zone 7.8. proximaler Abschnitt. 9. distaler Abschnitt. 10. Zone 8. 11. Zone 9. 12. Zone 10. Objektiv 25x.

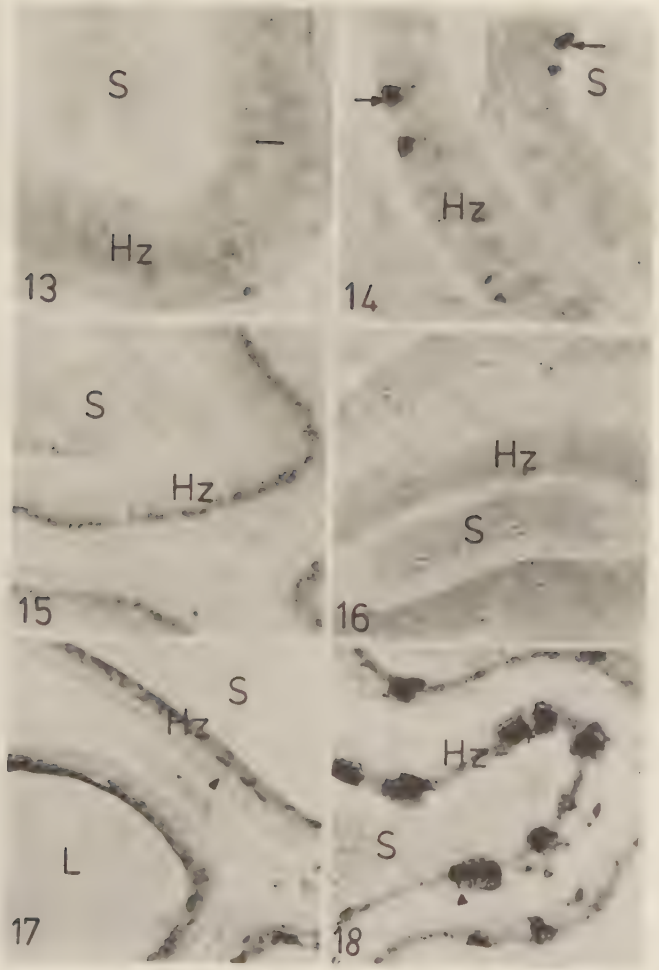

Abb. 13-18. Formaldehydfixation, Nachweis der ß-D-N-Acetylglucosaminidase mit dem Azokupplungsverfahren. Hz=Hauptzellen, Pfeile=Flaschenzellen, Striche=intraepitheliale Lymphocyten, +=helle Zellen, Pfeilköpfe=glatte Muskulatur, L=Lumen, S=Spermien. 13,14. Zone 1. 15. Zone 3. 16. Zone 3. 17. Zone 4. 18. Zone 5. Objektiv 25x.

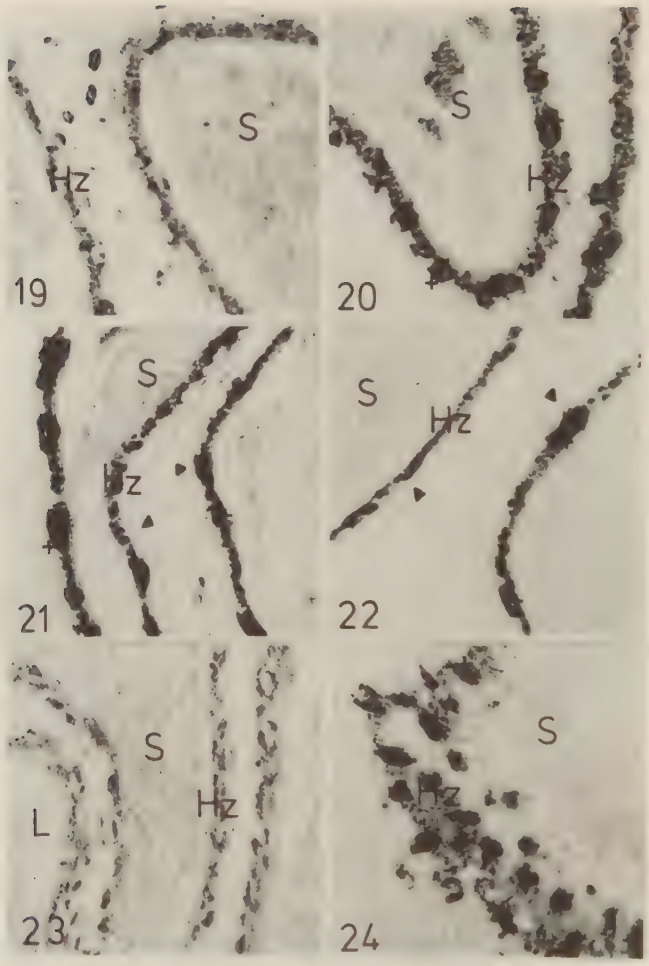

Abb. 19-24 s. Abb. 13-18. 19. Zone 6. 20,21. Zone 7. 20. proximaler Abschnitt, 21. distaler Abschnitt. 22. Zone 8. 23. Zone 9. 24. Zone 10. Objektiv 25x.

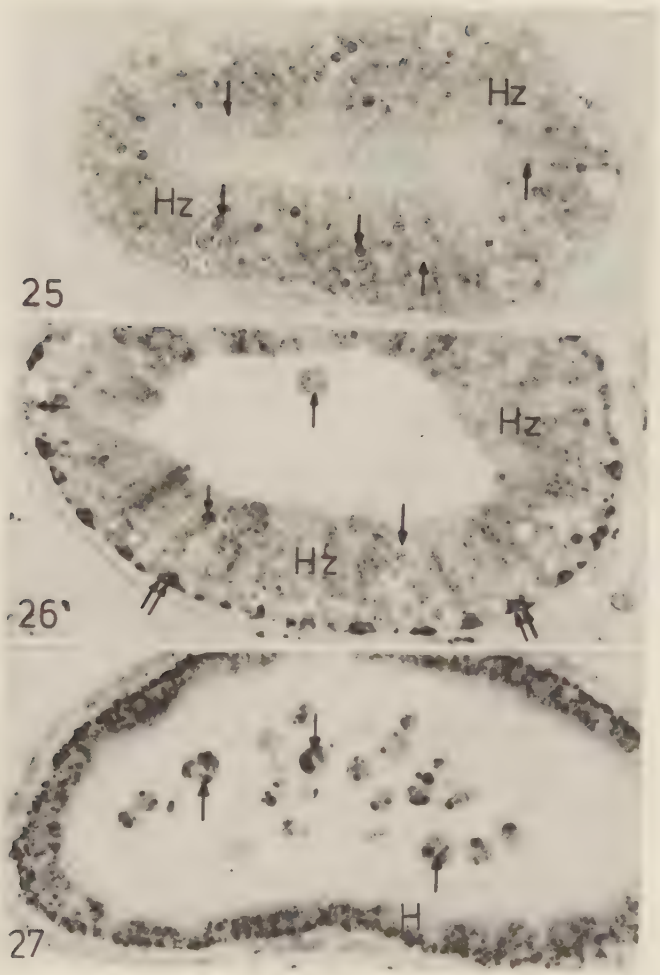

Abb. 25-27. 0,5 Tage nach bilateraler operativer Kastration, Hz=Hauptzellen, Pfeile=runde Zellen (abgerundete Hauptzellen) und zu Vakuolen umgewandelte Hauptzellen, Doppelpfeile=Basalzellen. 25, 26. Zone 1. 25. Formaldehydfixation, Nachweis der ß-D-N-Acetylglucosaminidase mit dem Azokupplungsverfahren. 26. Formaldehydfixation, Nachweis unspezifischer Esterasen mit 1-Naphthylacetat. 27. Zone 2 sonst s. 26. Objektiv 25x.

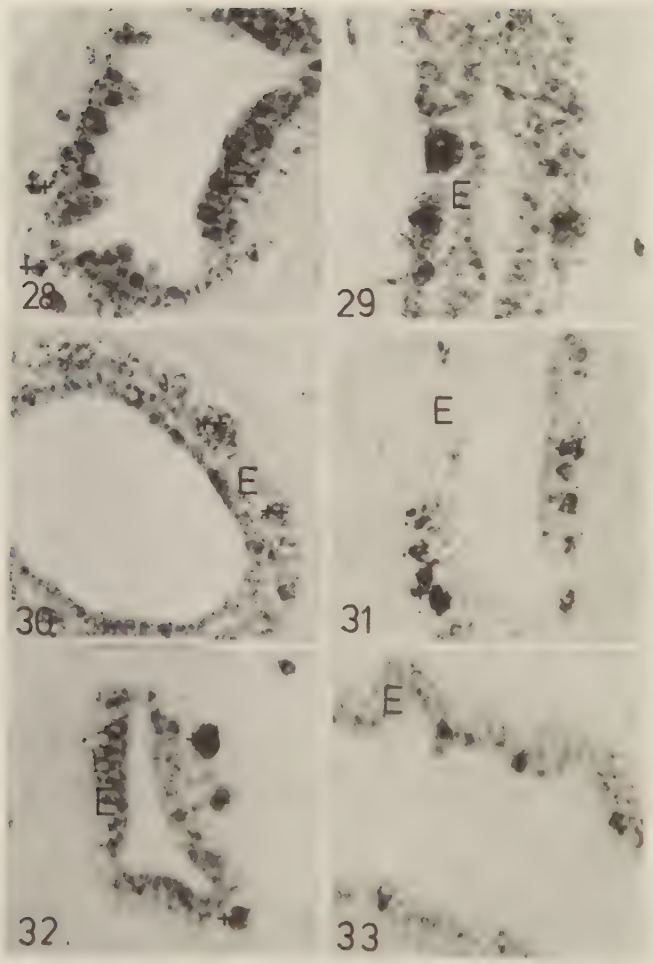

Abb. 28-33. Formaldehydfixation, E=Epithelzellen, += helle Zellen, ++=neue basale Zellen. 28-32. 10 Tage nach bilateraler operativer Kastration. 33. 3 Wochen nach bilateraler operativer Kastration. 28-31, 33. Nachweis der ß-D-N-Acetylglucosaminidase mit dem Azokupplungsverfahren. 32. Nachweis der ß-D-Glucuronidase. 28. Zone 3. 29. Zone 4. 30. Zone 6. 31. Zone 7. 32. Zone 6. 33. Zone 8. Objektiv 25x.

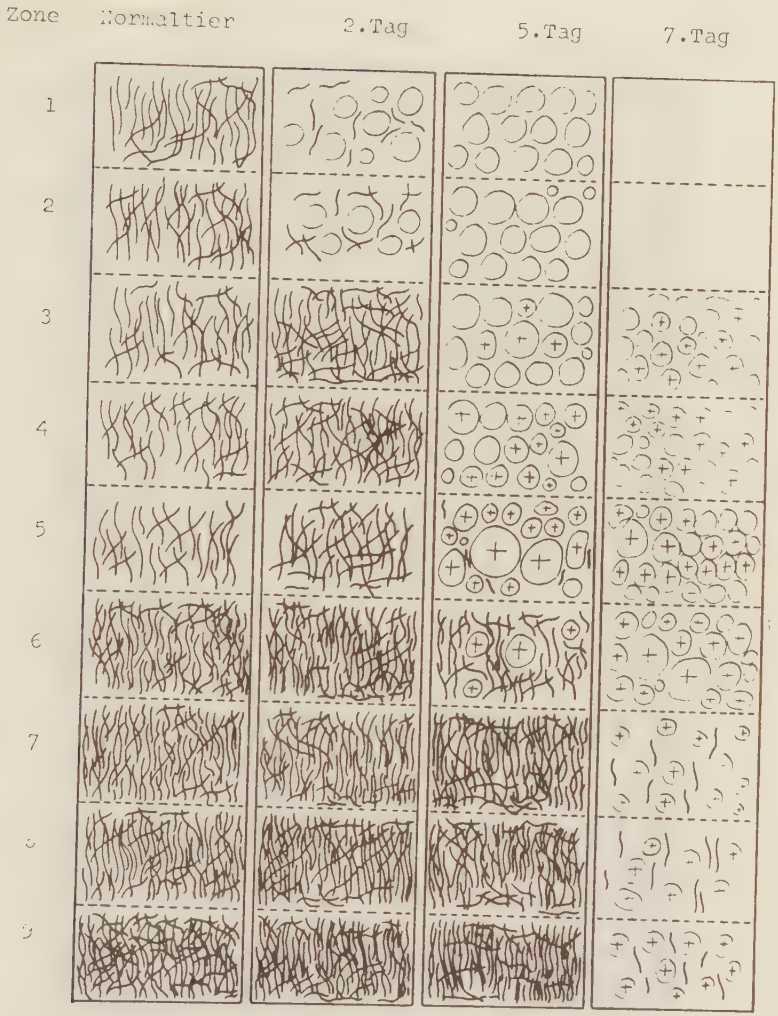

Abb. 34. Schematische Darstellung der Spermatidenwanderung durch den Nebenhodengang am Beispiel der ß-D-N-Acetylglucosaminidase im Ganglumen. Gewellte Linien=Spermien, leere Kreise=negativ reagierende Spermatiden, Kreise mit Kreuz=positiv reagierende.

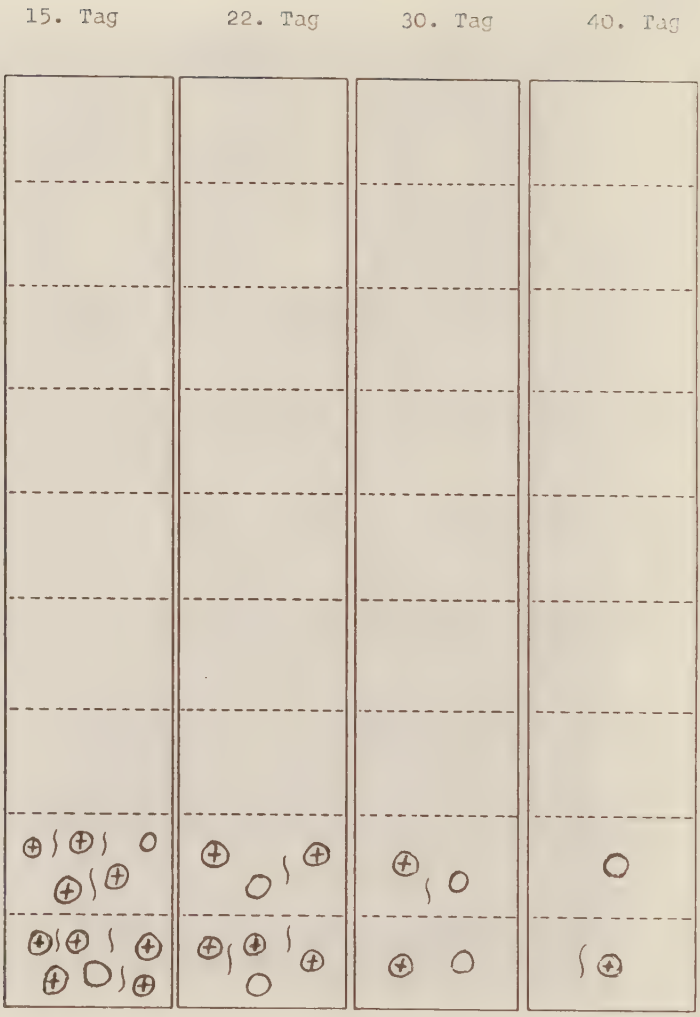

Abb. 34 (Fortsetzung)

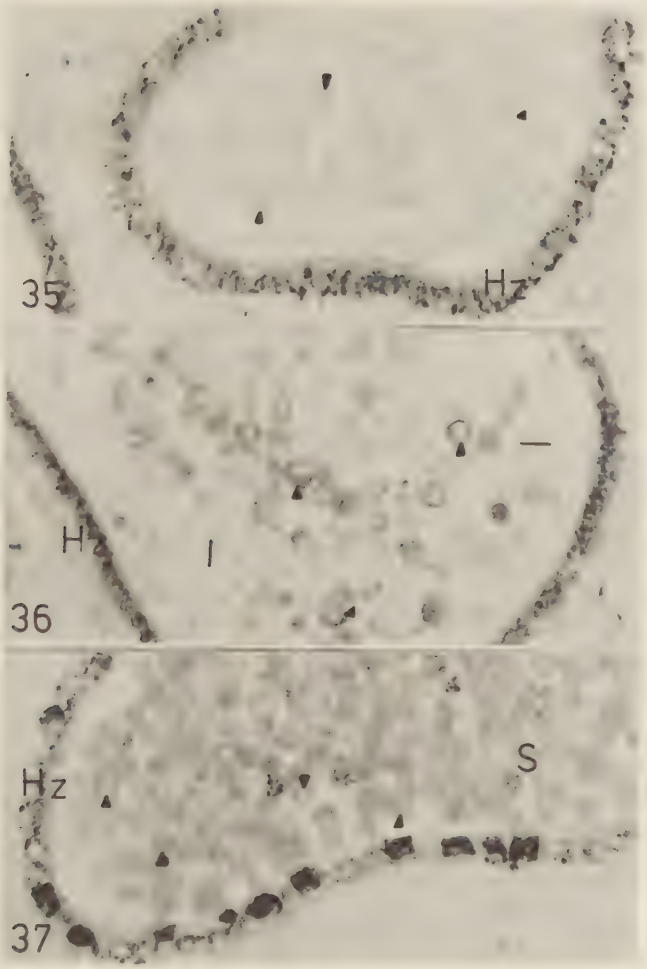

Abb. 35-37. Formaldehydfixation, Nachweis der ß-D-N-Acetylglucosaminidase mit der Azokupplungsmethode 5 Tage nach Kryptorchismus. Hz=Hauptzellen, +=helle Zellen, Striche oder S=Spermien, Pfeilköpfe=Spermatiden mit und ohne inkorporierte ß-D-N-Acetylglucosaminidase. 35. Zone 3 mit negativen Spermatiden. 36. Zone 4 mit schwach reagierenden Spermatiden. 37. Zone 5 mit vielen mittelkräftig reagierenden Spermatiden. Objektiv 25x.

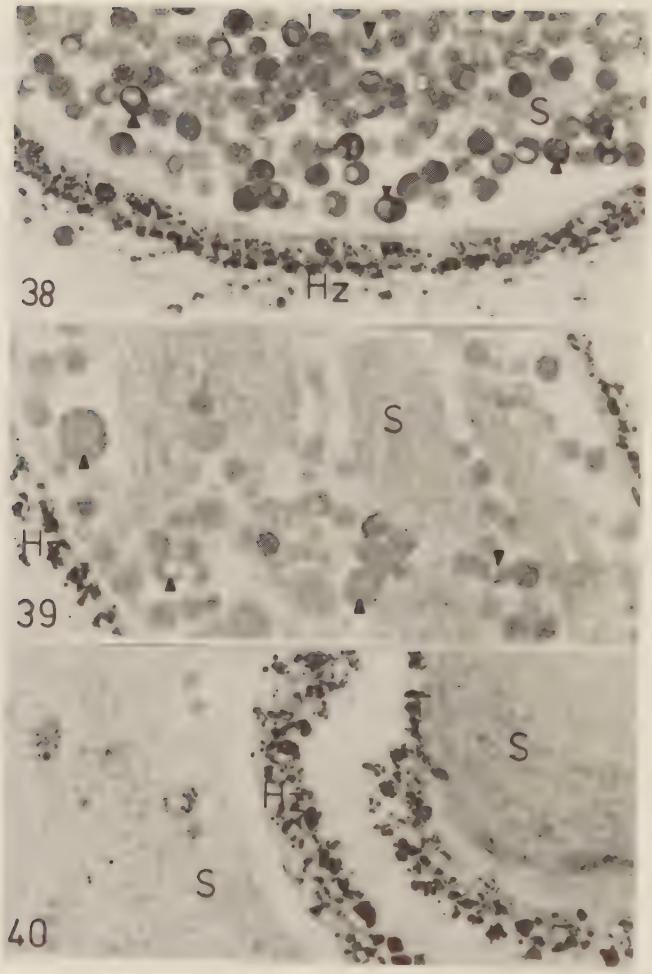

Abb. 38-40 s. Abb. 35-37. 38. Zone 6 mit zahlreichen stark reagierenden Spermatiden. 39, 40. Zone 7. 39. Proximaler Anteil mit einigen unterschiedlich stark positiven Spermatiden. 40. Distaler Abschnitt, der praktisch noch keine Spermatiden enthält. Objektiv 25x.

An dieser Stelle möchte ich denen danken, die die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht haben.

Allen voran danke ich Herrn Prof. Dr. Gossrau für die Überlassung des Themas; er hat mich mit viel Geduld in die Geheimnisse der Enzymhistochemie eingeführt und während der Erstellung der Arbeit nicht nur fachlich in wahrhaft väterlicher Weise betreut.

Herrn Prof. Dr. Schiebler danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferats, Frau Hack für die Entwicklung der Fotographien und dem gesamten Personal des Anatomischen Institutes für die freundliche Aufnahme.

Lebenslauf

Ich, Dieter Weiss, wurde am 29. April 1954 in Amberg/Opf. geboren. Meine Eltern sind der Zahntechnikermeister Wilhelm Weiss und seine Ehefrau Auguste, geb. Wanke.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich in Amberg die Pestalozzi-Schule, trat hier im September 1964 in das Gregor-Mendel-Gymnasium (mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig) ein und legte dort im Mai 1973 die Reifeprüfung ab.

Im Oktober 1973 wurde ich zum Grundwehrdienst einberufen. Während dieser Zeit nahm ich an den Sanitätslehrgängen Form 1 und 2 und den Führerscheinlehrgängen für Lastkraft- und Krankenkraftwagen erfolgreich teil.

Im Sommersemester 1975 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Im März 1977 legte ich das Physikum, im März 1978 den ersten und im März 1980 den zweiten Teil des Staatsexamens ab.

Am 21. April 1978 heiratete ich Barbara Greiner; am 15. Mai 1979 kam unser Sohn Andreas auf die Welt.

Dieter Weiss

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80